UNTERSUCHUNGEN ZUM CYANIDSTOFFWECHSEL ZUR FRAGE DER PATHOGENESE VON ERKRANKUNGEN BEI CHRONISCHER CYANIDZUFUHR SOWIE STUDIEN ZUR BIOCHEMISCHEN EVOLUTION DER CYANIDENTGIFTUNG

Rüdiger Baumeister

1972

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546016_0018

Aus dem Institut für klinische Chemie und klinische
Biochemie der Universität München
komm. Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Werle

UNTERSUCHUNGEN ZUM CYANIDSTOFFWECHSEL ZUR FRAGE DER PATHOGENESE VON ERKRANKUNGEN BEI CHRONISCHER CYANIDZUFUHR SOWIE STUDIEN ZUR BIOCHEMISCHEN EVOLUTION DER CYANIDENTGIFTUNG

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Rüdiger Baumeister
aus
München
1972

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. H. Schievelbein

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Dr. E. Werle

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 18.Juli 1972

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

DISSERTATIONS – und FOTODRUCK FRANK oHG
8000 München 2 · Gabelsbergerstr. 15 · Tel.: 2 80 90 90

Inhaltsangabe

		Seite
1.	Einleitende Übersicht über den Cyanidstoffwechsel	1
1.1.	Das Vorkommen von Cyanid	1
1.2.1.	Stoffwechselwege des Cyanids im Organismus	4
1.2.2.	Thiocyanat	7
1.2.3.	Thiosulfat-Sulfurtransferase	12
1.2.4.	Cyano- und Hydroxocobalamin	14
1.3.1.	Klinische Erscheinungen und deren Pathogenese bei akuter Aufnahme größerer Dosen von Cyanid	17
1.3.2.	Klinische Erscheinungen und deren Pathogenese bei chronischer Zufuhr von Cyanid	17
1.3.2.1.	Tabakamblyopie	18
1.3.2.2.	Retrobulbärneuritis bei perniciöser Anämie	21
1.3.2.3.	Leber'sche Optikusatrophie	23
1.3.2.4.	Nigerianische, ernährungsbedingte ataktische Neuropathie	25
1.3.2.5.	Sterilität bei starken Raucherinnen	26
1.4.1.	Die Behandlung der akuten Cyanidvergiftung	27
1.4.2.	Die Behandlung der chronischen Cyanidvergiftung	31

Seite

2. Eigene Untersuchungen 35

2.1. Problemstellung 35

2.2. Methodik 38

2.2.1. Eine einfache Methode zur Bestimmung von Cyanid 38

2.2.2. Methodik der Bestimmung der Thiosulfat-Sulfurtransferaseaktivität und weitere Methoden 44

2.3. Ergebnisse 46

2.3.1. Versuche zum Nachweis von freiem Cyanid im Serum 46

2.3.2. Der Einfluß von Tabakrauch auf die Thiosulfat-Sulfurtransferase und das endogene Thiocyanat in vitro 49

2.3.3. Der Einfluß von Nikotin auf die Thiosulfat-Sulfurtransferase und das endogene Thiocyanat in vivo 49

2.3.3.1. - bei langdauernder Zufuhr auf Organe des Kaninchens 49

2.3.3.2. -bei Nikotinzufuhr im Meerschweinchenauge 57

2.4. Die Aktivität der Thiosulfat-Sulfurtransferase und das Vorkommen des Thiosulfats in der Entwicklungsreihe der Tiere 61

2.4.1. Die Stellung der untersuchten Tiere in der Entwicklungsreihe 61

2.4.2. Ergebnisse 61

3. Diskussion 69

4. Zusammenfassung 73

5. Literaturverzeichnis 75

1. Einleitende Übersicht über den Cyanidstoffwechsel

In den letzten Jahren konnte die Pathogenese verschiedener Erkrankungen mit dem gestörten Abbau von Cyanid im menschlichen Organismus in Zusammenhang gebracht werden. Die entsprechenden therapeutischen Maßnahmen bestätigen durch ihren Erfolg die vermuteten und zum Teil experimentell belegten Zusammenhänge.

Beziehungen zwischen dem Stoffwechsel des Vitamin B_{12} und des Cyanidstoffwechsels wurden in der letzten Zeit aufgedeckt, therapeutische Überlegungen bei der akuten und chronischen Cyanidvergiftung verleihen dieser Beziehung eine aktuelle Bedeutung.

Aus diesen Gründen erscheint es nützlich, dem Cyanidstoffwechsel eine Übersicht zu widmen, welche die erwähnten Aspekte berücksichtigt und außerdem den heutigen Stand der Kenntnis über Vorkommen und Entgiftungsmechanismen von Cyanid enthält.

1.1 Das Vorkommen von Cyanid

Cyanid ist fast im gesamten Pflanzenreich in Spuren nachzuweisen, es wird nach Montgomery (1969) hauptsächlich in Form von cyanogenen Glykosiden angetroffen. Cyanogene Glykoside sind Verbindungen, aus denen nach Behandlung mit Säure HCN, ein oder mehrere Zuckermoleküle und ein Aldehyd oder Keton freigesetzt werden (Conn 1969). Diese Bestandteile werden auch nach Behandlung mit den entsprechenden hydrolytischen Enzymen liberiert. Wahrscheinlich kommt HCN in Pflanzen nur in glykosidischer Bindung vor. Bei der Aufarbeitung des Materials wird das durch saure oder enzymatische Hydrolyse freigesetzte HCN bestimmt. Neben der weiten Verbreitung bei höheren Pflanzen (Dilleman 1958) werden die cyanogenen Glykoside auch bei Insekten (Blum und Woodring 1962; Eisner et al. 1963; Jones et al 1962)

und bei Pilzen gefunden (Tschiersch 1967). Die Befähigung von Pflanzen Blausäure zu synthetisieren, also die Fähigkeit zur Cyanbildung, wurde bei 1ooo Spezies aus annähernd 9o Familien und aus 25o Genera nachgewiesen (Dilleman 1958; Hegnauer 1963). Einen Überblick über Pflanzen mit besonders hohem Cyanidgehalt gibt Tabelle 1. Weiter enthalten die Kerne einer Reihe von Beeren und die Kerne gewisser Prunusarten (z.B. Mandel, Kirsche, Aprikose) bekanntlich zum Teil erhebliche Mengen von cyanogenen Glykosiden (Moeschlin 1964). Nicht akut toxische Dosen können auch beim Verzehr von verschiedenen Kohlarten (Werle 1969) aufgenommen werden.

Wie bereits erwähnt, wurde Blausäure auch in Insekten nachgewiesen, so enthält das Wehrdrüsensekret von zwei Tausendfüßlergruppen HCN. Pachymerium ferrugineum, ein zu den Chilopoden gehörender Erdläufer, besitzt etwa 2,2 µgBlausäure pro Tier (Schildknecht et al. 1968). Blausäure aus Mandelonitril (Blum et al. 1962; Barbetta 1966) wurde auch bei Polydesmoidea, einem Tausendfüßler, der zu den Diplopoden gehört, nachgewiesen (Guldensteeden-Egeling 1882; Wheeler 1890).

Im Tabakrauch findet sich Cyanid in nicht unerheblichen Mengen, die Konzentration schwankt von Tabaksorte zu Tabaksorte (Osborne 1956; Wynder 1967; Elmenhorst 1968; Stedman 1968). Artho und Koch fanden im Hauptstromrauch filterloser Zigaretten pro Zigarette Werte zwischen 15o bis 3oo µg.Sie lagen damit im Bereich der Meßergebnisse anderer Autoren (Newsome et al. 1965). Auch unsere eigenen Meßergebnisse stimmen mit diesen größenordnungsmäßig überein.
Bei Zigaretten mit Cellulose-Acetatfilter ergab sich nur eine unwesentliche Cyanidretention durch den Filter. Geeignete Adsorbensfilter verminderten dagegen den ursprünglichen Cyanidgehalt um 20 bis 80 %.
Der Cyanidgehalt der Partikelphase pro Zigarette liegt sowohl bei Blend-Zigaretten, als auch bei Maryland-Zigaretten bei etwa 1oo µgCN^-/Zigarette. Die Cyanidwerte der Gaspase liegen etwas höher. Sie betragen bei Blend-Zigaretten etwa 15o µg CN^- pro Zigarette, bei Maryland-Zigaretten etwa 12o µg CN^- pro Zigarette (Artho und Koch 1969).

Tabelle 1: Cyanidgehalt verschiedener Nahrungsmittelpflanzen

Pflanze	HCN-Gehalt mg/100 g	Literatur:
Bittermandel	250	Polson u. Tattersall (1959)
"Bittercassava"		
Wurzelrinde/getr.	245	Collens (1915)
Stamm	113	Collens (1915)
Wurzel(insgesamt)	55 - 90	Clark (1936) Correia (1947)
Sorghum		
frische Blätter	0 - 15	Stählin (1957)
Bambus		
Spitzen unreifer Sprößlinge	800	Baggchi und Ganguli (1943)
Stamm, unreif	300	Baggchi und Ganguli (1943)
Limabohne (Phaseolus lunatus) verschiedene Abarten		
Java, bunt	312	Guignard (1907)
Puerto Rico, schwarz	300	Viehoever (1940)
Burma, weiß	210	Kohn-Abrest (1906)
Arizona, bunt	17	Montgomery (1964)
America, weiß	10	Montgomery (1964)
Leinsaatprodukte	30 - 50	Lüdtke (1952) Pulss (1962)
Weißklee	20 - 60	Corkill (1940) Melville et al.(1940) Pulss (1962)

nach: Montgomery(1969)und Pulss(1967)

Weitere Möglichkeiten für den Menschen Cyanid in großen Mengen aufzunehmen, bestehen durch Einatmen von HCN-Verbindung in der chemischen und galvanischen Industrie sowie bei der Goldgewinnung.
Von Bedeutung ist die Giftung, d.h. Freisetzung von HCN aus organischen Thiocyanaten (Pflanzenschutzmitteln), sie wird bei Insekten und Säugetieren durch die Glutathion-S-transferase (Glutathion-Schwefel-Transferase), insbesondere aus niederen aliphatischen Homologen bewirkt. Dies erklärt die hohe Toxizität einiger niedriger Alkylderivate des Thiocyanats (Gleason et al. 1969; Lehman 1951; Gustafson et al. 1953; von Oettingen et al. 1936; Conn 1944; Morrison und Brown 1954; Ohkawa und Casida 1971).
HCN wurde in neuerer Zeit versuchsweise therapeutisch angewandt. Nieper (1971) benutzte dabei die Freisetzung von Cyanid+Benzaldehyd aus Amygdalin durch ß-Glukosidase zur Krebstherapie.
Zusammenfassend kann gesagt werden:
Die Mengen an Cyanid, die der Mensch physiologischerweise zu sich nimmt, schwanken stark, sind aber im ganzen gesehen gering, abgesehen vom Tabakrauch.

1.2.1. Stoffwechselwege des Cyanids im Organismus

Blausäure kann durch die Lungen, den Verdauungstrakt und auch durch die Haut in den menschlichen Organismus gelangen. Wird Blausäure oral aufgenommen, so können schon beim Menschen Dosen von o,5 mg bis 3,5 mg/kg Körpergewicht tödlich wirken (Chen et al. 1934; Gettler und Baine 1938; Halstrom und Moller 1945).
Die MAK (Maximale-Arbeitsplatz-Konzentration) für Blausäure beträgt 1o ppm[+], 1oo ppm sind lebensgefährlich, 27o ppm führen schnell zum Tode. Die toxische Wirkung der Blausäure beruht auf ihrer großen Affinität zu der Cytochromoxydase. Die Bindung an das Enzym, obwohl reversibel, bewirkt eine sofortige Hemmung der zellulären Atmung.

[+] 1 ppm (parts pro million) = 1 µl pro Liter

Es wurden eine Reihe von Stoffwechselwege beschrieben, auf denen Cyanid entgiftet werden kann. Diese Wege lassen sich am lebenden Organismus durch Zufuhr von radioaktiv markierten Cyanidverbindungen demonstrieren.
Nach Injektion von Na $C^{14}N$ beim Hund erscheint das C^{14} im Urin, im freien Cyanid, als Bestandteil von Cyanocobalamin und im Thiocyanat. Zu einem großen Teil wird der Cyanid- und Thiocyanatkohlenstoff direkt zu CO_2 oxydiert, nach Boxer und Rickards (1952) wahrscheinlich auf dem Weg über Cyanat.

Der Kohlenstoff des Cyanids und, wohl infolge des metabolischen Gleichgewichts, auch der des Thiocyanats, erscheint auch in den Kohlenstoffen der Methylgruppen des Cholins und Methionins und im Harnstoff-C des Allantoins. Die bei diesen Versuchen isolierte Ameisensäure enthält ein hohes Maß an C^{14}, so daß sie als Ausgangsverbindung für die Einschleusung des Cyanidkohlenstoffs in den Ein-Kohlenstoff-Metabolismus dienen könnte (Boxer und Rickards 1952).

Nach subcutaner Gabe von Natriumcyanid bei Ratten konnte 2-Imino-4-thiazolidincarboxylsäure aus dem Urin isoliert werden (Wood und Cooley 1956). Dabei soll Cyanid mit Cystin unter Bildung von Cystein und ß-Thiocyanoalanin reagieren. Letzteres tautomerisiert zu 2-Aminothiazolidin-4-carboxylsäure oder dem Äquivalent 2-Imino-4-thiazolidincarboxylsäure (Schöberl et al 1951). Die zweite Verbindung erwies sich bei Ratten als stoffwechselinert (Wood und Cooley 1956).

Die Entgiftung von Cyanidverbindungen zu Thiocyanat kann auf zwei Stoffwechselwegen erfolgen, Eine, bereits länger bekannte Reaktion, wird durch das Enzym Thiosulfat-Sulfurtransferase (E.C. 2.8.1.1.),von Lang (1933) Rhodanese genannt, katalysiert. Thiosulfat und Cyanid bilden dabei Thiocyanat und Sulfit.

Auf dem zweiten Weg dient 3-Mercaptopyruvat, das durch Transaminierung von L-Cystein entstehen kann als Schwefeldonator. An der Cyanid-Sulfurtransferase (E.C. 2.8.1.2) (Fiedler und Wood 1956) wird dann Thiocyanat und Pyruvat gebildet.
In dem Schema der Abbildung 1 sind die angeführten Stoffwechselwege des Cyanids dargestellt.

Abbildung 1:

Stoffwechselwege des Cyanids im Organismus

CN^- + $S_2O_3^{--}$ —(Thiosulfat-Sulfurtransferase)→ SO_3^{--} + SCN^-

CN^- + 3-Mercaptopyruvat —(Cyanid-Sulfurtransferase)→ Pyruvat + SCN^-

CN^- + Hydroxocobalamin ——→ Cyanocobalamin

CN^- + Cystin ——→ 2-Aminothiazolidin-4-carboxylsäure (2-Imino-4-thiazolidincarboxylsäure) + Cystein

CN^- ——→ Ameisensäure ——→ 1-C-Stoffwechsel

Einbau des Cyanidkohlenstoffs in Cholin, Methionin, Allantoin

Oxydation zu CO_2

Ausscheidung über Lunge und Niere

Blockierung der Cytochromoxydase

Die verschiedenen Abbauwege werden vom Organismus in unterschiedlichem Grade benutzt. Bilanzuntersuchungen, welche Auskunft über die Belastung der einzelnen Wege geben könnten, fehlen. Es dürfte jedoch feststehen, daß dem Entgiftungsweg zu Thiocyanat der bedeutendste Anteil zukommt. Nach der Injektion von Kaliumcyanid bei einer Ratte fand sich 80 % des injizierten Cyanids im Harn in Form von Thiocyanat (Wood und Cooley 1956).

Die Wirksamkeit der Therapie mit Thiosulfaten bei Cyanidvergiftungen, auch in Kombination mit Rhodanese (Clemedson et al. 1954) könnte ebenfalls dafür sprechen, daß der Entgiftung des Cyanids mit Hilfe der Thiosulfat-Sulfurtransferase eine große Bedeutung zukommt.

1.2.2. Thiocyanat

Seit der erstmaligen Beschreibung des Vorkommens von Thiocyanat im Speichel durch Treviranus (1814) und der Entdeckung der Entgiftung von Blausäure durch Bildung von Rhodanid durch S. Lang 1895 sind eine Reihe von Arbeiten über Beziehung zwischen der Konzentration dieses Metaboliten und physiologischen und pathologischen Zuständen erschienen, von denen hier nur die neueren erwähnt werden sollen.

Funderburk und van Middlesworth (1968) untersuchten die Thiocyanatkonzentration im Hungerzustand und unter dem Einfluß der Nahrung bei Ratten. Während einer viertägigen Hungerperiode und in der Zeit danach wurden nach einer ^{35}SCN-Injektion die Thiocyanatkonzentrationen im Plasma und im Urin gemessen. Während des Fastens stieg die Plasmakonzentration an Thiocyanat von 544 µg pro 100 ml (Normalmittelwert) auf 823 µg/100 ml. Die Urinausscheidung an SCN sank von 115 µg/Tag auf 50 µg/Tag ab. Unter Nahrungszufuhr kehrten diese Parameter innerhalb eines Tages zu Normalwerten zurück. Die Verdünnung der spezifischen Aktivität des Plasmathiocyanats zeigt, daß 27 % des SCN-Pools während der Periode der Nahrungsaufnahme und während des Fastens 17 % täglich erneuert wurde.

Aufgrund dieser und weiterer Ergebnisse wurde vermutet, daß die Synthese von SCN nicht von der Aufnahme von Thiocyanat mit der Nahrung abhängig ist und daß die beobachteten Veränderungen eine Folge geänderter Ausscheidungsverhältnisse während des Fastens sind.

Von besonderem Interesse sind die Veränderungen im Cyanidstoffwechsel unter dem Einfluß des Rauchens, wohl der am weitesten verbreiteten Art der Zufuhr von Cyanid.

Claude Bernard machte als erster die Beobachtung, daß Raucher bedeutend mehr Thiocyanat ausscheiden als Nichtraucher (nach Pick 1910). Diese Beobachtung wurde von vielen Autoren bestätigt, in neuerer Zeit von Støa (1951) sowie Maliszewsky und Bass (1955).

In Tabelle 2 ist die Konzentration von Thiocyanat im Blut und Speichel sowie die Ausscheidung im Harn bei Rauchern und Nichtrauchern aufgeführt.

Tabelle 2 : SCN^- Konzentration in Blut, Speichel und Harn bei Nichtrauchern und Rauchern, Bereich und Mittelwerte

	Nichtraucher	Raucher
Blut (Serum) mg/100 ml	0,025 - 1,21 $\bar{m}$= 0,379	0,06 - 2,48 $\bar{m}$= 1,06 8 Autoren
Speichel mg/100 ml	2,03 - 26,5 $\bar{m}$= 5,54	7,57 - 27,5 $\bar{m}$= 12,82 3 Autoren
Urin g/24 h.	0,002 - 0,232 $\bar{m}$= 0,117	0,012 - 0,283 $\bar{m}$= 0,147 2 Autoren

nach: Larson (1961)

Der Gehalt von Thiocyanat im Blut und Serum bei Rauchern war nach einigen Autoren um 1oo - 3oo % erhöht, im Vergleich zu den Nichtrauchern (Schreiber 1925; Blum 1928; Lawton et al. 1943; Trasoff und Schneeberg 1944; Ramos und Visca 1945; Støa 1951; Maliszewski und Bass 1955). Caviness (1948) fand dagegen keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen Rauchern und Nichtrauchern.
Die Frage nach einer direkten Korrelation zwischen dem Zigarettenkonsum und dem Thiocyanatgehalt im Blut wurde von den Autoren teils positiv (Schreiber 1925), teils negativ (Lawton et al. 1943) beantwortet.

Übereinstimmend wird dagegen berichtet, daß bei Rauchern im Harn mehr Thiocyanat ausgeschieden wird als bei Nichtrauchern (Pick 1910, Lawton et al.1943; Maliszewski und Bass 1955; Wokes 1958).

Über erhöhte Thiocyanatmengen im Speichel von Rauchern berichteten einige Autoren zu Beginn des Jahrhunderts (Mendel und Schneider 19oo; Fleckscher 19o5; Culverwell 1915). Spätere Untersuchungen ergaben keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen Rauchern und Nichtrauchern (Fischmann und Fischmann 1948). Nach Eschler et al. (1968) besteht kein Unterschied zwischen dem Rhodangehalt des Speichels der Raucher und der Nichtraucher. Das Rauchen einer Zigarette bewirkt eine geringe Mehrproduktion von Speichel, aber eine Abnahme der Rhodanidkonzentration im Speichel.

In einer Untersuchung über die Wirkung des Zigarettenrauchens auf den Thiocyanatgehalt des Urins und des Speichels versuchten Barylko-Pikielna und Pangborn (1968) diese offensichtlichen Widersprüche in den Befunden zu erklären, sie stellten fest: Der Thiocyanatgehalt im Urin, mit der Methode nach Aldrige (1944, 1945) bestimmt, ist nur grob proportional zum Tabakkonsum. Es bestehen dabei große individuelle Unterschiede. Die Konzentrationen im Speichel, die zwischen Rauchern und Nichtrauchern weit schwanken, korrelieren besser mit dem Ausmaß des Zigarettenkonsums als die Urinkonzentrationen. Ein sehr schneller Anstieg im Thiocyanatgehalt des Speichels

wurde während und und unmittelbar nach dem Rauchen einer Zigarette beobachtet (Barylko-Pikielna et al.1968). Dies könnte, bei einem nicht standartisiertem Intervall zwischen dem Rauchen und der Probenentnahme, die unterschiedlichen Befunde verschiedener Autoren erklären.

An Einzelbefunden sind noch zu erwähnen:
Die Spiegel des Thiocyanats im Liquor cerebrospinalis liegen parallel zu den Werten im Serum (Blum 1928).

Bei zwei Rauchern fand sich im Schweiß ein bedeutend höherer Thiocyanatgehalt als bei Nichtrauchern (Maliszewski und Bass 1955).

Bronchoskopisch gewonnenes Sputum enthält kein Thiocyanat. Sputumbeimengungen im Speichel verändern also dessen Gehalt an Thiocyanat nicht.

Langmann (1966) fand im Speichel von Patienten mit Magencarcinomen signifikant niedrigere SCN^--Konzentrationen als bei Patienten mit Magenulcera und Gesunden. Als Ursache für diese Veränderung wird eine Verminderung des Gesamtkörpergehaltes an SCN durch das Erbrechen von Magensaft und Verschlucken von Speichel angenommen, jedoch wird ein solches Erbrechen nicht bei allen Patienten beobachtet.

Thiocyanat ist im menschlichen Organismus nicht indifferent, daher wurde dessen Einfluß auf physiologische Funktionen verschiedentlich untersucht.

In Erythrocyten steigt in Gegenwart von 12o mM SCN^- sowohl der Kalium-Ausstrom als auch der Natrium-Einstrom um 2oo - 3oo %. Der aktive Kationentransport wird jedoch in einer Lösung von 12o mM SCN^- nicht stimuliert, sondern der Ouabain-sensitive Ionentransport sinkt während der Inkubation der Erythrocytensuspension, trotz Bedingungen, die den Natrium- und Kaliumtransport fördern, nämlich eine ansteigende Konzentration des extrazellulären Kaliums und des intrazellulären Natriums (Wieth 1969),(Funder und Wieth 1967).

2 mM SCN^- hemmen die Säureproduktion der Magenschleimhaut des Frosches um 50 %, 1o mM bewirkt eine vollständige Hemmung (Le Ferre et al. 1964). Außerdem hemmt Thiocyanat den Sauer-

stoffverbrauch in der Schleimhaut (Forte und Davies 1964). Die mitochondriale Atmung war bis zu einer Thiocyanatkonzentration von 22 mM nicht gehemmt, so daß der Hemmechanismus sich wohl auf den Säuresekretionsvorgang bezieht (Kidder 1968).

Auch eine Beeinflussung des Kohlenhydratstoffwechsels wurde diskutiert.Von Cyanid ist eine Bindung an Zink ja bekannt. Zwei Äquivalente Thiocyanat gehen bei pH 5,5 mit einer Einheit Insulin (12ooo g) eine Bindung ein. So wird das Insulin, das in saurer Lösung ohne Thiocyanat gut löslich ist, bei Zugabe von Thiocyanat fast vollständig präzipitiert (Volkin 1948). Kristallines Zink-Insulin geht eine reversible Bindung mit Thiocyanat bei niedrigem pH ein. 6 Moleküle Thiocyanat sind maximal an eine Einheit Insulin gebunden (Fredericq und Neurath 1950). Versuchsergebnisse bei Ratten könnten durch diese Befunde erklärt werden. Die Tiere erhielten über mehrere Tage hinweg sowohl s.c. Rhodanidinjektionen, als auch Blausäure mit der Magensonde und mit dem Trinkwasser verabreicht (Pulss 1964). Bei diesen Versuchen zeigte sich eine Erhöhung des Blutzuckerspiegels gegenüber dem Kontrollwert.
Die Aufnahme größerer Mengen von Thiocyanat führt beim Menschen zu klinischen Erscheinungen.
Bekannt ist die Entwicklung einer Jodmangel-Struma mit allen Symptomen einer Hypothyreose (Moeschlin 1964). Die Hemmung des aktiven Jodidtransports und damit der Jodidaufnahme in die Schilddrüse liegt dieser Erscheinung zugrunde.
Von Barnett und Mitarb.(1951) wurde das gehäufte Vorkommen einer Thiocyanatpsychose bei der Behandlung der Hypertonie mit Thiocyanat beschrieben.

1.2.3 Thiosulfat-Sulfurtransferase

Die Bildung von Thiocyanat als enzymatische Reaktion wurde 1933 von K. Lang beschrieben. Er schlug den Namen Rhodanese für dieses Enzym vor. Der systematische Name ist jetzt: Thiosulfat-Cyanid-Sulfurtransferase oder Thiosulfat-Sulfurtransferase (E.C.2.8.1.1.). Lang beschrieb es als ein Enzym mit absoluter Spezifität für HCN, das pH-Optium liege bei pH 8,3, die Reaktion verlaufe nach der Schütz´schen Regel, bei Erwärmung auf 56 ^{o} C werde das Enzym zerstört. Die Reaktionsgeschwindigkeit sei außerordentlich groß, durch zweiwertige Kationen werde das Enzym gehemmt. Lang fand das Enzym in fast allen Organen von Mensch, Frosch, Kaninchen, Rind, Huhn, Taube, Katze und Hund, nicht jedoch im Blut und in der Muskulatur. Im Gegensatz dazu konnte Himwich und Saunders (1948) bei Hunden im Blut und bei Hunden, Rhesusaffen und Kaninchen im Muskel das Enzym nachweisen. Auch Reinwein (1961) fand die Thiosufat-Sulfurtransferase in allen Organen von Mensch, Pferd, Schwein, Schaf, Rind und Ratte, nicht jedoch im Serum. Zwischen der Enzymaktivität und der Rhodanidkonzentration in den Organen besteht keine Beziehung.
Was die intrazelluläre Verteilung des Enzyms betrifft, so wird es hauptsächlich in den Mitochondrien gefunden (Sörbo 1951).

Die Gesamtentgiftungskapazität wird von Himwich und Saunders (1948) überschlagmäßig berechnet. Die Leber eines Hundes müßte in der Lage sein, innerhalb von 15 Minuten 4,015 g Cyanid und der gesamte Skelettmuskelapparat 1,763 g zu entgiften. Diesen Berechnungen steht die geringe Toleranz des tierischen Körpers gegen Cyanid entgegen. Die Autoren kommen daher zu dem Schluß, daß der limitierende Faktor der Cyanidentgiftung die Verfügbarkeit der Thiosulfat-Sulfurtransferase sein müsse. Eventuell spiele auch ein Mangel an Schwefeldonatoren eine Rolle, da eine dreifach höhere Konzentration an Thiosulfat als die des zu entgiftenden Cyanids in vitro nötig ist, um Thiocyanat in ausreichender Menge zu bilden.

Als erstem gelang es Sörbo (1953 a) das Enzym kristallin darzustellen. Das Enzym ist bei einem pH von 7,4 elektrophoretisch homogen. Bei einem pH niedriger als 5 wird es denaturiert. In der Ultrazentrifuge ist es homogen mit einer Sedimentationskonstante von 3,o S. Die Diffusionskonstante beträgt 7,5 x 10^{-7} und das partielle spezifische Volumen o,74. Das Molekulargewicht beträgt 37 ooo, was Volini et al. (1968) bestätigt haben. Die Umsatzgeschwindigkeit im Standardtest liegt bei 2o ooo Molekülen SCN/min und pro Molekül. Aus der Relation zwischen Temperatur und Aktivität wird die Aktivierungswärme mit 7 9oo cal. berechnet (Sörbo 1953 b). Untersuchungen von Volini et al. (1968) mittels Gelfiltration und Ultrazentrifugation zeigen, daß die Rhodanese als Dimer und in einem sich rasch einstellenden Gleichgewicht zwischen zwei identischen Untereinheiten existiert. Ein stabiles Dimer wird unter Bedingungen gebildet, die für eine Sulfhydryloxydation günstig sind. Am aktiven Zentrum der Rhodanese soll eine Sulfhydrylgruppe beteiligt sein (Sörbo 1951 a, b, 1953, 1962, 1963; Leininger und Westley 1968). Bestätigt und erweitert wird diese Annahme von Volini et al. (1968), welche zwei Sulfhydrylgruppen fanden. Hemmung einer der beiden Gruppen mit Jodacetat führte zum vollständigen Verlust der Aktivität (Wang und Volini 1968).

Ein Tryptophanrest ist ebenfalls am aktiven Zentrum beteiligt (Davidson und Westley 1965; Wang und Volini 1968). Die Umgebung des Tryptophans ist überwiegend hydrophob. Dies stabilisiert das bei der Spaltung des Thiosulfats freigesetzte Schwefelatom, ohne daß es gleich zu einer kovalenten Bindung kommen müßte, die später durch das zweite Substrat wieder unter Energieaufwand gesprengt werden müßte (Detoma und Westley 1970).

Im Gegensatz zu Sörbo nehmen Leininger und Westley (1968) an, daß bei der Rhodanesereaktion das Thiosulfat an ein Metallion im Enzym gebunden wird. Es werde ein Komplex gebildet, der eine Veränderung der Konformation des Proteins auslöst. In diesem Metallion-Thiosulfat-Komplex komme es zu einer Elektronenverschiebung von dem äußeren Schwefelatom zum Thiosulfat mit einer resultierenden Dehnung und Schwächung der Schwefel-

Schwefel-Bindung. Diese Bindung ist dann leichter angreifbar durch eine starke nucleophile Gruppe des Enzyms, die die Spaltung bewirkt. Die Sprengung der Schwefel-Schwefel-Brücke scheint mit einer neuerlichen Änderung der Konformation verbunden zu sein.

Eine zusätzliche, von der Rhodanese katalysierte Reaktion wird von Villareyo und Westley (1963) beschrieben. Danach vermittelt das Enzym außerdem die Reduktion von Thiosulfat zu Sulfit und Sulfid,wie aus Untersuchungen mit kristallisierter Rhodanese aus Rinderleber hervorgeht. Als Reduktionsmittel dient reduziertes Liponat und Liponamid. Auch die Rückreaktion wurde beschrieben.

1.2.4. Cyano- und Hydroxocobalamin

In dieser Übersicht interessiert in der Hauptsache die Cyanidverbindung des Cobalamins die bei bestimmten pathologischen Zuständen von Bedeutung zu sein scheint.

Wie in Abbildung 1 dargestellt, ist Vitamin B_{12} bei der Entgiftung des Cyanids beteiligt. Zwei Formen des Vitamins sind seit längerem bekannt.Je nach der Verbindung des zentralen Kobaltatoms mit einer Hydroxyl- oder einer Cyanidgruppe (Brink et al. 1950), spricht man vom Hydroxo- oder Aquocobalamin (Vitamin $B_{12\ a}$) und vom Cyanocobalamin (Vitamin $B_{12\ b}$). Belichtet man Lösungen von Cyanocobalamin, so wird das koordinativ gebundene CN^- abgespalten. Umgekehrt läßt sich Hydroxocobalamin mit überschüssigem KCN in neutraler Lösung wieder in Cyanocobalamin überführen

Zusätzlich zum koordinativ gebundenen Cyanid vermag Cyanocobalamin mit zwei weiteren Molen Cyanid Komplexe zu bilden. (Beavan 1950; Conn et al. 1951; Conn und Wartmann 1952)

Nach Lindstrand und Stahlberg (1963) enthält menschliches Plasma verschiedene mikrobiologisch unterschiedlich aktive Cobalamine.Mit chromatographischen und bioautographischen Methoden wurden diese Verbindungen als Methylcobalamin, Hydroxocobalamin, Cyanocobalamin und Desoxyadenosylcobalamin identifiziert (Lindstrand und Stahlberg 1963;

Lindstrand 1964; Stahlberg 1964;.Linnell et al. 1969). 5,6-Dimethylbenzimidazol und Benzimidazol werden von Clostr. tetanomorfum als Cofaktor verwertet (Barker et al. 1958; Weissbach et al. 1959). Nach Inkubation findet man beide Verbindungen an Vitamin B_{12} gekoppelt vor. Toohey und Barker (1961)vermuten, daß Vitamin B_{12} auch in der menschlichen Leber hauptsächlich als 5,6-Dimethylbenzimidazol-B_{12} vorliegt. Spätere Untersuchungen bestätigten, daß die Hauptmenge an Cobalamin in der Form des Methylcobalmins vorliegt, jedoch solle die ursprünglich als Desoxyadenosylcobalamin identifizierte Verbindung zu einem großen Teil oder ausschließlich Hydroxocobalamin sein (Stahlberg 1967).

Über Veränderungen im B_{12}- Stoffwechsel bei Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern existieren eine Reihe von Untersuchungen. Diese sind für das Verständnis der Pathogenese der Tabakamblyopie von Bedeutung.

Eine vergleichende Untersuchung (Linnel et al. 1968) der Serum B_{12}- Spiegel, der Ausscheidung von Vitamin B_{12} im Harn und der Ausscheidung von Thiocyanat im Urin als Parameter für die Cyanidentgiftung bei gesunden Rauchern und gesunden Nichtrauchern ergab: Bei Rauchern ist die B_{12}- Ausscheidung und die SCN^--Ausscheidung im Harn erhöht. Eine hohe Thiocyanatausscheidung im Harn ist also verknüpft mit einem Anstieg der B_{12}- Ausscheidung und einer relativ niedrigen B_{12}- Konzentration im Serum. Nach Ansicht der Verfasser erscheint die erhöhte Ausscheidung nicht zu genügen, um die Erniedrigung der Serum B_{12}- Konzentration zu erklären. Diese mag vielmehr das Ergebnis des durch hohe Plasmacyanidkonzentrationen gestörten Gleichgewichts zwischen Serum- und Gewebe-Vitamin B_{12} zu sein.

Von Phillips et al. (1968) wurde Kammerwasser bei 16 Patienten während Kataraktoperationen gewonnen und mikrobiologisch auf den Gehalt an Vitamin B_{12} untersucht. Kammerwasser enthält durchschnittlich 3o pg/ml und liegt so in der Größenordnung des Liquor. Zwischen Rauchern und Nichtrauchern bestehen eindeutige Unterschiede. Der Vitamin B_{12}-Gehalt des Kammerwassers beträgt bei Nichtrauchern 34,3 pg/ml, bei Rauchern ist er mit

2o,2 pg/ml im Mittel ($p < o,1$) deutlich niedriger.

Die mikrobiologischen Bestimmungen von Vitamin B_{12}, die von den meisten Autoren benützt werden, lassen eine eindeutige Trennung zwischen Hydroxo- und Cyanocobalamin nicht zu. Daher sind auch die Untersuchungen von Wilson und Matthews (1966)mit Vorbehalt zu betrachten, die die metabolische Beziehung zwischen Cyanid, Thiocyanat und Vitamin B_{12} bei 17 gesunden Rauchern und 10 gesunden Nichtrauchern klären sollten, wobei versucht wurde zwischen Hydroxo- und Cyanocobalamin zu differenzieren. Nach einer Hypothese von Smith (1961 a, b) soll die Differenz zwischen totalem Vitamin B_{12} und dem nicht mit CN^- extrahierbarem Vitamin B_{12} Hydroxocobalamin sein. Die Autoren fanden, daß der Anteil des Serum -B_{12}, der ohne Cyanidzugabe extrahierbar ist, bei Rauchern größer ist als bei Nichtrauchern. Werden die Ergebnisse bei Rauchern und Nichtrauchern zusammengenommen, so ergibt sich eine positive Korrelation zwischen Cyanid- und Thiocyanatkonzentrationen und eine negative Korrelation zwischen der Thiocyanatkonzentration und der Differenz zwischen dem totalen Serum-Vitamin B_{12}und dem Vitamin B_{12}, das ohne Zugabe von Cyanid extrahierbar ist. Zwischen dem Plasmacyanid (Werte um 0,001 µg/ml) und dem totalen Serum-Vitamin B_{12} besteht eine negative Korrelation.

Dem Cyanid scheint bei der Beeinflußung des Vit.B_{12}-Stoffwechsels eine besondere Bedeutung zuzukommen. Tägliche Injektionen von 0,7 ml einer 0,1 % igen KCN-Lösung bei Ratten über 6 Tage verringern die B_{12}-Leberreserven um durchschnittlich 20 Prozent. (Braekkan et al. 1957)

1.3.1. Klinische Erscheinungen und deren Pathogenese bei Aufnahme größerer Dosen von Cyanid

Das Auftreten der Vergiftungssymptome hängt davon ab, wie schnell der Anstieg des Cyanids im Gewebe erfolgt. Dieser entscheidende Faktor wird bestimmt durch die Art der Cyanidverbindung, durch den Vergiftungsweg, die aufgenommene Dosis und durch die Fähigkeit des Organismus, das Cyanid zu entgiften. Bei Aufnahme von großen Dosen HCN kann der Tod innerhalb weniger Minuten eintreten, bei mittleren Dosen wurden Überlebenszeiten bis zu 3 Stunden beobachtet. Kleine, nicht tödliche Dosen können Kopfschmerzen, Schwindel und Schleimhautreizungen an den Augen und im Rachen verursachen. Eine Cyanidinjektion in die a.carotis communis bewirkt, wie Heymans 1931 zeigte , eine Hyperventilation durch Erregung der Chemorezeptoren des Glomus caroticum.
Die hochakute Form der Cyanidvergiftung ist durch einen apoplektiformen Verlauf gekennzeichnet. Die Vergifteten brechen meist mit einem kurzen Aufschrei zusammen; es folgen Dyspnoe bis zur Apnoe, Krämpfe, Kollaps und Bewußtseinsverlust. Der Tod tritt nach 1 - 2 Minuten ein.
Das am häufigsten vorkommende Vergiftungsbild wird in der Hauptsache von zentralen hypoxämischen Erscheinungen beherrscht: Hyperpnoe, Bewußtlosigkeit, generalisierte Krämpfe und schließlich Paralyse mit kompletter Areflexie. Hierbei dauert der Todeskampf 15 - 60 Minuten. Als eigentliche Todesursache der akuten Intoxikation ist der Atemstillstand anzusehen, der einige Minuten vor dem Herzstillstand eintritt(Friedberg und Grützmacher 1968).

1.3.2. Klinische Erscheinungen und deren Pathogenese bei bei langdauernder Zufuhr von Cyanid

Die chronische Zufuhr von Cyanid in Dosen, die als Einzelgabe zu keinen klinischen Erscheinungen führt, wird für die Pathogenese einiger Erkrankungen als wesentlich

angesehen. Eine Blockierung einer der Abbauwege des Cyanids ist in einigen Fällen wahrscheinlich gemacht worden.
Als Folge einer chronischen Cyanidintoxikation wurden bisher beschrieben:

die Tabakamblyopie
die Retrobulbärneuritis bei der perniciösen Anämie
die Leber'sche Optikusatrophie
die nigerianische ernährungsbedingte ataktische Neuropathie
die Sterilität bei starken Raucherinnen

1.3.2.1. Tabakamblyopie+

Die Häufigkeit der Tabakamblyopie wird von verschiedenen Autoren unterschiedlich angegeben. Nach Hollwich et al. (1968) wurden in der gesamten Weltliteratur 1000 Fälle mitgeteilt. Dagegen wurden nach Traquair allein in den Jahren 1913 - 1929 1525 Fälle in zwei Edinburger Kliniken registriert (Traquair 1930).
Das Krankheitsbild, das nur bei Rauchern auftritt, weist als wesentlichstes Symptom ein zentrales Skotom auf. Von Heaton et al.(1958) wird das Vorliegen von 7 Kriterien für die Diagnose verlangt(Einzelheiten s. Hollwich et al. 1968)

+) Eine Reihe von Autoren differenziert nicht zwischen Tabak- und Alkoholamblyopie, sondern benützt die Bezeichnung Tabak-Alkohol-Amblyopie. Nach Harrington(1962) kann die durch Alkohol hervorgerufene Amblyopie durch genaue quantitative perimetrische Analysen der Skotome von der Tabakamblyopie unterschieden werden. Die Befunde bei der Tabakamblyopie bestehen aus zentralen Skotomen mit fließenden Übergängen, deren größte Dichte sich im Feld zwischen dem blinden Punkt und der Fixation befindet, und Schwierigkeiten beim Fixieren.Bei der Methylalkohol-Amblyopie beschreibt er dichte, unregelmäßige, zentrale Skotome mit extremem Verlust des Sehvermögens.

Bei Patienten mit Tabakamblyopie wurden vaskuläre Veränderungen und Degeneration von Ganglienzellen in der Retina und von Fasern des nervus opticus beschrieben. Besonders betroffen sind diejenigen Fasern, die mit dem makulären Bündel in Verbindung treten (Duke-Elder 1954).
Victor, Mancall und Dreifus (1960) berichten über einen Fall mit zentrozökalen Skotomen beider Augen bei Alkohol- und Tabakabusus. Sie beschreiben eine Degeneration des papulomakulären Bündels bis ins corpus geniculatum laterale mit Schwund von Markscheiden und Achsenzylindern, sowie einer fibrösen Gliose.
Diese pathologisch- anatomischen Befunde zeigen eine auffallende Parallelität zu den durch Cyanidzufuhr im Tierexperiment gemachten Beobachtungen.
Wiederholte kleine Dosen von Cyanid erzeugen eine Demyelinisierung im ZNS bei der Ratte und beim Affen (Hurst 1942; Lumsden 1950).
Leishman(1951) glaubte eine Beziehung zwischen Amblyopie und Mangel an Magensäure beobachtet zu haben und vermutete daher einen Zusammenhang in der Ätiologie der Amblyopie und der Perniciosa.
Die gute therapeutische Wirkung von Vitamin B_{12} bei der Tabakamblyopie läßt ebenfalls an einen Vitamin B_{12}-Mangel als Ursache denken.
Dieser kann durch eine allgemeine Mangelernährung mit einer verminderten Vit.B_{12}-Aufnahme zustande kommen, die manche amerikanische Autoren als Ursache in den Vordergrund stellen. (Victor 1963, Knox 1970, Surgeon General 1971)
Dieser Vit.B_{12}-Mangel kann auch durch die Umwandlung von "funktionellem " Hydroxocobalamin in "nichtfunktionelles" Cyanocobalamin entstehen. Experimentelle Untersuchungen stützen diese Annahme.
Die Injektion von subletalen Dosen von Cyanid bei Ratten bewirkt eine signifikante Abnahme des Vit.B_{12}-Speichers in der Leber. Diese Reserven sind offenbar ein wichtiger Faktor bei der Entgiftung von Cyanid und bestehen deshalb mit großer Wahrscheinlichkeit aus Hydroxocobalamin (Braekkan et al.

1957). Vitamin B_{12}Mangel in der Nahrung führt zu einer gesteigerten SCN^-Ausscheidung, so daß angenommen wird, Hydroxocobalamin und die Thiosulfat-Sulfurtransferase konkurrieren um das zu entgiftende Cyanid (Wokes und Picard 1955a; Wokes und Picard 1955b)

Diese und ähnliche Befunde waren der Anlaß den Vit.B_{12}-Stoffwechsel bei Patienten mit Tabakamblyopie zu untersuchen. Bei 13 Patienten mit Tabakamblyopie wurde ein Mittelwert von 218 pg B_{12}/ ml Serum gefunden, während die Konzentration bei 12 gesunden Probanden im Mittel 538 pg/ ml betrug (Heaton et al. 1958). Dabei wurde die Methode von Mollin und Ross (1952, 1954) mit euglena gracilis als Testorganismus durchgeführt. Der Anteil von Cyanocobalamin am Gesamt-B_{12} lag bei Patienten mit Tabakamblyopie signifikant über den Werten bei Normalpersonen (Wilson et al. 1971).

Seit einigen Jahren wird von verschiedenen Autoren mit radioaktiv markiertem Vitamin B_{12} mit der von Schilling (1953) angegebenen Methode der Stoffwechsel des Vitamins untersucht.

Kommerell und Castrillón-Oberndorfer (1968) fanden bei 2 von 5 Patienten mit Tabakamblyopie eine schwere Vit.B_{12}-Resorptionsstörung.

Watson-Williams et al.(1969) sahen dagegen bei 15 Patienten mit Tabakamblyopie keine Herabsetzung der Resorption. Rauchten die Patienten jedoch während der Untersuchung, war die B_{12}-Resorption vermindert. Nach Untersuchungen von Foulds et al.(1969) wiesen Patienten mit Tabakamblyopie in 40 % der Fälle verminderte Serum B_{12}-Spiegel auf. Bei 45 % war die Vit.B_{12}-Resorption gestört.

Foulds und Mitarb. (1969) konnten bei Patienten mit Tabakamblyopie eine direkte Beziehung zwischen dem Tabakverbrauch, der Vit.B_{12}-Absorption und dem Serum B_{12}-Spiegel nachweisen. Trat bei einem Patienten bei geringem Tabakkonsum eine Amblyopie auf, so war die Vit. B_{12}-Absorption mangelhaft oder der Serum B_{12}-Spiegel niedrig. Waren dagegen die Serum B_{12}-Spiegel hoch, so manifestierte sich die Erkrankung nur bei erheblichem Tabakgenuß.

Foulds und Mitarb. (1968) untersuchten auch die Serumthiocyanatkonzentration bei starken Rauchern mit Tabakamblyopie und Rauchern ohne Tabakamblyopie, sowie bei Nichtrauchern. Sie fanden, wie schon Støa (1957), einen signifikant erhöhten Thiocyanatspiegel im Serum von Rauchern gegenüber den Werten bei Nichtrauchern. Demgegenüber waren die Thiocyanatkonzentrationen bei Patienten mit Tabakamblyopie signifikant erniedrigt gegenüber gesunden Rauchern, obwohl die Patienten mit der Tabakamblyopie mehr rauchten als die gesunden Raucher. Diese Befunde deuten auf einen möglichen Enzymdefekt hin , einen hereditären Mangel an Enzymen, die zur SCN^--Bildung befähigt sind.

Überblickt man die angeführten Befunde, so läßt sich für die Tabakamblyopie etwa folgender vorläufiger Entstehungsmechanismus angeben:

Die Patienten nehmen größere Mengen an Cyanid mit dem Tabakrauch auf.

Die Entgiftung des Cyanids ist gestört durch

a. einen Mangel an verfügbarem Hydroxocobalamin
   durch ungenügende Zufuhr mit der Nahrung
   durch eine gestörte Resorption
   durch vermehrte Umwandlung zu Cyanocobalamin
b. durch einen hereditären Mangel an Enzymen die zur SCN^--Bildung befähigt sind.

Das ungenügend entgiftete Cyanid ist an der Schädigung des ZNS beteiligt.

1.3.2.2. Retrobulbärneuritis bei perniciöser Anämie

Neben der Tabakamblyopie, von der bekannt ist, daß sie oft mit der perniciösen Anämie kombiniert ist, wird noch eine Retrobulbärneuritis bei perniciöser Anämie beschrieben, eine seltene, jedoch gut bekannte Komplikation , die der Biermerschen Anämie auch vorausgehen kann (Cohen 1936).
Diese Komplikation tritt hauptsächlich bei Männern auf. Unter 29 in der Literatur beschriebenen Fällen fanden sich nur

3 Frauen (Hamilton et al. 1959).
Es erhebt sich die Frage, ob diese Retrobulbärneuritis eine von der Tabakamblyopie zu trennende Krankheit sei, oder ob sie nicht denjenigen Teil der Tabakamblyopiefälle umfaßt, der gleichzeitig eine Perniciosa entwickelt oder bereits an ihr leidet.
Nach einem kritischen Überblick über die Literatur von Freeman (1961) und nach Beobachtungen dieses Autors an 2 Patienten mit Retrobulbärneuritis, bei denen niedrige Vit.B_{12}-Spiegel und klinische Erscheinungen ähnlich denen bei einer Tabakamblyopie beobachtet wurden, kam der Verfasser zu dem Schluß:"es wurde auch wahrscheinlich gemacht, daß die Tabakamblyopie und die Retrobulbärneuritis bei perniciöser Anämie ein und denselb en Krankheitszustand darstellen".
Die histologischen Befunde am nervus opticus (Bickel 1914) bei der Retrobulbärneuritis erwiesen sich als ähnlich denjenigen , die bei der Tabakamblyopie gefunden wurden (Duke-Elder 1954). Degenerationsherde in beiden nervi optici, mit beträchtlicher Proliferation der Neuroglia und einer Rundzellinfiltration in das Gewebe um die Blutgefäße, wurde bei beiden Krankheitsbildern beschrieben.. Da bisher nur eine Arbeit über die pathologisch-anatomischen Befunde bei der Retrobulbärneuritis in Zusammenhang mit der perniciösen Anämie publiziert wurde, steht eine Bestätigung noch aus. (Freeman 1961).
Da nach Freeman nie ein Nichtraucher unter den Kranken beschrieben wurde, die Erkrankung nicht mit der Dauer der Anämie korreliert war und männliche Patienten bei der Retrobulbärneuritis überwiegen, obwohl die Anämie beide Geschlechter gleich häufig befällt, postulierte er einen zusätzlichen Faktor zur Auslösung der Retrobulbärneuritis. Er ist der Meinung, daß der nervus opticus auf die toxischen Wirkungen des Tabaks empfindlich reagiere, was auf einen Mangel an Vitamin B_{12} zurückzuführen sei (Freeman 1961).
Nach Adams(1967) soll die"optische Neuropathie" der perniciösen Anämie auch bei Nichtrauchern vorkommen.
Smith (1961 a) hält auch bei der Retrobulbärneuritis das Cyanid des Tabakrauches für den ätiologisch ausschlaggebenden Faktor.

1.3.2.3. Leber'sche Optikusatrophie

Die Krankheit wurde 1871 von Leber als eine hereditäre Krankheit beschrieben, bei der eine Abnahme des Sehvermögens akut oder subakut mit der Ausbildung von bilateralen zentralen Skotomen auftritt. Die Leber'sche Optikusatrophie tritt bei jungen Männern etwa im Lebensalter um 20 Jahre auf, obwohl die Altersverteilung in weiten Grenzen schwankt. 15 Prozent der Patienten sind Frauen. Bei einigen Patienten treten diffuse enzephalomyelopathische Komplikationen auf, entweder gleichzeitig mit der Abnahme des Sehvermögens oder später (Innamura und Ichikawa 1919; Ferguson und Gritchky 1928; Colenbrander 1951; Enghoff 1963; Wilson 1963; Less et al. 1964). Migräne, Epilepsie und psychiatrische Störungen geben Anhaltspunkte dafür, daß es sich um eine diffuse neurologische Erkrankung handelt(Curran 1937; Androp 1941; Bates 1964).
Die Manifestationen der Krankheit sind jedoch nicht auf das ZNS und die Augen beschränkt. Verschiedene Skelettanomalien, wie Kyphoskoliosen und andere Wirbelsäulendefekte, Tendenz zu Frakturen, Arachnodaktylie und atypische ankylosierende Spondylitiden wurden beobachtet (Wilson 1965 a,b).
In Anbetracht der hereditären Natur dieses Leidens und der klinischen Erscheinungen kam Wilson (1965 a) zu dem Schluß, daß diese Erkrankung auf einer Enzymstörung beruhe, deren Manifestation, zumindest die Schäden am Sehapparat, durch exogene Faktoren veranlaßt wird.
In der Frage der Enzymstörung brachten Aktivitätsmessungen der Thiosulfat-Sulfurtransferase keine eindeutige Klärung.

Im Lebergewebe aus einer Nadelbiopsie fand sich eine erniedrigte Aktivität an Thiosulfat-Sulfurtransferase bei dem Kranken im Vergleich zu einer Kontrollperson. Die Leber desselben Patienten zeigte bei postmortaler Untersuchung eine etwas geringere Enzymaktivität, verglichen mit zwei Kontrolllebern. Der Enzymgehalt einer Gehirnprobe lag dagegen bei dem Patienten im Leber'scher Optikusatrophie über dem einer Kontrollperson.

Als exogenen Faktor für die Manifestation der Sehstörungen zog Wilson das Rauchen in Betracht.
Bei gesunden Rauchern ist der Blutspiegel des Thiocyanats und dessen Exkretion im Harn , wie oben erwähnt, im Vergleich zu Nichtrauchern erhöht. Bei Rauchern, die an der Leber'schen Optikusatrophie leiden, ist die Erhöhung des Thiocyanatspiegels im Blut weniger ausgeprägt oder fehlt ganz.
Patienten mit Leber'scher Optikusatrophie , sowohl Raucher wie Nichtraucher, zeigen im Vergleich zu Gesunden signifikant höhere Anteile von Cyanocobalamin am Gesamt B_{12}-Gehalt des Serums. Das Verhältnis von Methylcobalamin zu Coenzym B_{12} plus Hydroxocobalamin ist bei der Leber'schen Optikusatrophie deutlich erniedrigt (Wilson et al. 1971).
Unter den wenigen erwachsenen Patienten mit Leber'scher Optikusatrophie befanden sich nach der Beobachtung von Wilson 4 Frauen und 2 Männer, bei denen dem Auftreten der Symptome eine akute Pyelonephritis vorausging. Bei zwei Kindern aus Familien mit Leber'scher Optikusatrophie trat die Sehschwäche im Zusammenhang mit einer Infektion des Harntraktes auf (Wilson 1967).
Adams et al.(1966) fanden experimentelle Hinweise, daß Harnwegsinfektionen mit Ps. pyocyaneus und E. coli durch Bildung von Cyanid zur Entstehung der Leber'schen Optikusatrophie beitragen können. Dies würde die seltenen Fälle erklären, bei denen die Erkrankung Nichtraucher befällt. Smith hatte bereits 1964 Infektionen als Quellen für Cyanid beschrieben.
Einen weiteren Anhaltspunkt für die Beteiligung von Cyanid an der Entstehung dieser Krankheit, auch bei Nichtrauchern gibt folgender Einzelbefund (1965 a): Ein Patient, der Nichtraucher war,wies eine fast doppelt so hohe Konzentration an Cyanid im Plasma auf, als Patienten die rauchten. Die gemessenen Werte liegen allerdings im Nanogrammbereich.

1.3.2.4. Nigerianische ernährungsbedingte ataktische Neuropathie

(nigerian nutritional atactic neuropathy)

Das voll ausgebildete ataktische Syndrom dieser in Nigeria vorkommenden Erkrankung besteht in einer Atrophie des nervus opticus, Taubheit und sensorischer spinaler Ataxie (Money 1958)
Die tropische Amblyopie , wahrscheinlich eine fragmentarische Form des vollentwickelten Syndroms, wurde in Nigeria zuerst durch More (1930) untersucht. Zusammen mit der tropischen Amblyopie und dem ataktischen Syndrom finden sich in der Literatur auch noch Angaben über das Vorkommen von Mundwinkelentzündungen, Glossitiden und einer Dermatitis des Skrotums (Lit. bei Osuntokun et al. 1969).
Aufgrund dieser Symptome äußerten mehrere Autoren den Verdacht, es könne sich bei diesem Krankheitsbild um eine Vit. B_{12}-Mangelerscheinung handeln. Das gehäufte Auftreten der kombinierten Störungen bei der Bevölkerung Nigerias, die eine cyanidhaltige Pflanze, nämlich Cassava (s.Tab.1), als ein Hauptnahrungsmittel zu sich nimmt, ließ Clark(1935) vermuten, daß die Sehstörungen bei der tropischen Amblyopie auf eine Cyanidintoxikation infolge eines großen Konsums an Cassava zurückzuführen seien.
Cassava enthält Linimarin, ein cyanogenes Glykosid. Außerdem kommt in der Pflanze eine Hydrolase (Linase) vor, die rasch erhebliche Mengen an Cyanid freisetzt, wenn die Blätter, der Stengel oder die mehligen Wurzeln beschädigt werden. Eine Cassava-Art (Manioc utilissima), die in Nigeria am meisten verwendet wird, enthält besonders hohe Konzentrationen an cyanogenem Material in den äußeren Schichten der knolligen Wurzeln. Von dort dringt freies Cyanid in das Innere der Pflanze und kann so die eßbaren Teile vergiften (Osuntokun et al. 1969).
Bei einem Vergleich zwischen der Thiocyanatkonzentration und dem Vit.B_{12}-Spiegel im Plasma bei nigerianischen Patienten

mit degenerativen neurologischen Erscheinungen und bei Gesunden wurde die Auffassung bekräftigt, daß die Patienten eine hohe Cyanidaufnahme zu bewältigen haben. Die Thiocyanatkonzentration im Plasma war bei den Kranken hochsignifikant erhöht. Ursache für diese erhöhte SCN^--Konzentration könnte auch eine erhöhte SCN^--Zufuhr sein. Als SCN^--Quelle kommen hauptsächlich Milch und Kreuzblütler in Frage.Beides wird in Nigeria kaum konsumiert. So bleibt als wesentliche Quelle die Cassavapflanze.

Bei der Bestimmung des Gesamtvitamin B_{12}-Gehaltes ergaben sich keine Unterschiede zwischen Patienten und Gesunden. Jedoch ist der Gehalt des Plasmas an Hydroxocobalamin bei Patienten geringer als bei Gesunden (Monekosso und Wilson 1966).

Aus einem Vergleich der Erkrankungsziffern bei zwei Dörfern in Nigeria mit verschiedenen Ernährungsgewohnheiten geht ebenfalls hervor, daß der Genuß von Cassava bei der degenerativen Neuropathie eine kausale Bedeutung hat.

In dem Dorf mit dem höheren Cassavakonsum tritt in einem relativ hohen Prozentsatz die Erkrankung auf. Bei den Patienten finden sich erhöhte Plasmathiocyanatspiegel (Osuntokun et al. 1969).

Eine Verringerung oder ein vollständiges Fehlen der schwefelhaltigen Aminosäuren Cystein und Methionin im Plasma wird bei dieser Erkrankung ebenfalls beobachtet. Es erscheint möglich, daß die Entgiftung von Cyanid über die Bildung von 2-Imino-4-thiazolidin-carboxylsäure durch das Fehlen von Cystein verhindert wird (Osuntokun et al. 1968).

1.3.2.5. Sterilität bei starken Raucherinnen

Nach einem Bericht von Heller liegt der Rhodangehalt im Cervixschleim zwischen 0,2 und 1,0 mg/ 100 ml. Die höchsten Werte werden während der Sekretionsphase gemessen. Bei sieben Frauen mit ungeklärter Sterilität fanden sich Rhodankonzentrationen zwischen 1,0 und 2,3 mg/ 100 ml. Bei zwei starken Raucherinnen wurden Werte über 5 mg/ 100 ml

ermittelt. Es erscheint sicher, daß SCN^--Werte über 1,0 mg die Spermatozoen schädigen können. Die nach Heller (1960) oft zu beobachtende Sterilität starker Raucherinnen liese sich so erklären.
Bettocchi und Marcelli (1963) konnten jedoch keinen Einfluß des Rauchens auf die Fertilität bei Frauen feststellen.

1.4.1. Die Behandlung der akuten Cyanidvergiftung

Das therapeutische Ziel, die Senkung der Cyanidkonzentration im Blut und Gewebe, läßt sich durch spezifische und unspezifische Entgiftungsmaßnahmen erreichen. Eine Kombination beider erscheint als die optimale Lösung.

1.4.1.1. Unspezifische Maßnahmen

Die Abgabe der Blausäure kann durch die Forcierung der Atmung beschleunigt werden. Wird in blausäurefreier Luft die Atmung gesteigert, sinkt der Partialdruck für Blausäure in den Alveolen. Der Konzentrationsgradient zum Blutplasma wird erhöht, so daß das im Plasma gelöste leichtflüchtige Gas in erhöhtem Maße abgegeben werden kann. Eine künstliche Beatmung ist daher zu empfehlen. Friedberg und Schwarzkopf (1969) fanden bei Spontanatmung nur eine geringe Elimination der Blausäure über die Lunge. Sie betrug 1-2 Prozent der infundierten Dosis. Künstliche Beatmung steigerte die CN^-- Ausscheidung dagegen um das 3-4 fache. Auch im Tierexperiment haben Friedberg und Grützmacher(1968) beobachtet, daß allein durch eine Stimulation der Atmung die Vergiftung abgeschwächt werden kann.
Sheehy und Way(1968) fanden bei Überlebensversuchen an Ratten nach Cyanidzufuhr,daß Sauerstoff allein oder in Kombination mit Thiosulfat und Natriumnitrit eine bessere Wirkung als Thiosulfat allein besitzt. Bei diesen Versuchen wurde eine LD_{50} von 31,5 mg/kg Kaliumcyanid per os festgestellt, wenn als Antidot 0,5 g $Na_2S_2O_3$ /kg und normale Luft gegeben wurde. Durch Gabe von 100%igem Sauerstoff wurde sie auf 63,8 mg/kg Kaliumcyanid gesteigert.

Die Verabreichung von Sauerstoff erfolgt unter der Vorstellung, eine eventuell vorhandene arterielle Hypoxie infolge einer frühzeitigen Lähmung des Atemzentrums kompensieren zu können.
Moeschlin empfiehlt zusätzlich eine Sauerstoffüberdruckbeatmung. Nach Friedberg und Grützmacher (1968) könnte unter einem erhöhten Sauerstoffdruck der sogenannten cyanidresistenten Atmung eine größere Bedeutung zukommen.

1.4.1.2. Spezifische Maßnahmen

In Tabelle 3 sind die spezifischen Maßnahmen bei einer akuten Cyanidintoxikation zusammengefaßt.
Natriumthiosulfat (Lang 1895) besitzt eine sehr hohe Entgiftungskapazität. Von entscheidendem Nachteil ist jedoch die relativ geringe Wirkgeschwindigkeit. Erst nach mehreren Minuten macht sich ein therapeutischer Effekt bemerkbar (Friedberg 1968). Bei schwersten Vergiftungen mit drohendem Atemstillstand ist die Entgiftungsgeschwindigkeit von Thiosulfat zu gering.
Die kombinierte Anwendung von Natriumthiosulfat mit dem entgiftenden Enzym, der Thiosulfat-Sulfurtransferase wurde von Clemdson et al. (1954) beschrieben.

Methämoglobinbildner, in erster Linie Nitrite (Natriumnitrit zur Injektion, Amylnitrit zur Inhalation) werden seit 40 Jahren in der Therapie der Cyanidvergiftung eingesetzt (Hug 1932, Geiger 1933, Chen et al. 1933a,b)
Methämoglobin(Ferrihämoglobin) bildet mit Cyanid Cyan-Methämoglobin, indem der Cyanidrest an das dreiwertige Eisen des oxydierten Blutfarbstoffs gebunden wird.
Bei einem Hb-Gehalt des Erwachsenen von ca. 1000 g und einer Methämoglobinbildung von 10%, also 100 g Meth-Hb, können theoretisch 156 mg CN^- gebunden werden. Dies entspricht etwa der tödlichen Dosis (Friedberg 1968).
Nach Chen und Rose (1952) hat sich die Kombination von Nitriten mit Thiosulfat im Tierversuch und bei Vergiftungsfällen

Tabelle 3 : Spezifische Maßnahmen zur Therapie der akuten Cyanidintoxikation beim Menschen

Substanz	Dosierung bei i.v. Gabe	Wirkmechanismus	Literatur
Natriumthiosulfat	1 - 5 g 12 - 25 g	Schwefeldonator	Klimmer (1971
Natriumnitrit +	300 mg	Methämoglobin-bildung	Moeschlin (1964)
4-Dimethylamino-phenol	2.5 - 3.25 mg/kg KG	"	Weger (1968) Klimmer (1971)
Kobalthistidin	20 mg/kg.	Bindung von Cyanid	Klimmer (1971)
Kobalt EDTA	300 - 600 mg	"	Moeschlin (1964)
Hydroxocobalamin	5 - 15 g	"	Friedberg (1968)

+ nach Möglichkeit nicht zu verwenden (Klimmer 1971)

bewährt.
Eine Neuentwicklung auf dem Gebiet der Methämoglobinbildner sind die Aminophenole, die seit 1965 von Kiese und Weger (1965 a,b)zur Entgiftung von Cyanid empfohlen werden. Dabei wirkt im Vergleich zu anderen untersuchten Aminophenolen 4-Dimethylaminophenol im menschlichen Blut am schnellsten. Eine Methämoglobinkonzentration von 15 % war bereits in weniger als 1 Minute erreicht(Weger 1968;Weger 1969;Kiese und Weger 1969). Die optimale Konzentration an Methämoglobin zur Behandlung einer Cyanidvergiftung liegt bei 50 % (Lörcher und Weger 1971).
Das 4-Dimethylaminophenol ist auch in seiner Wirkung auf die Atmung und den Kreislauf dem Nitrit und den Kobaltverbindungen:Kobalthistidin, Kobalt-Äthylendiamin-tetraessigsäure (Kobalt-EDTA) und Hydroxocobalamin überlegen. Eine Modellvergiftung an Katzen mit 8 mg KCN/kg zeigte, daß bei Behandlung mit Hydroxocobalamin 2 von 3 Tieren, mit Kobalt-EDTA 3 von 4 Tieren starben. Bei Behandlung mit $NaNO_2$ starben 7 von 8 Tieren, während bei 4-Dimethylaminophenol-HCl nur eines von 8 Tieren starb (Weger 1969).
Beim Menschen ließ sich mit Dosen von 4-Dimethylaminophenol, die nur eine geringe Wirkung auf Blutdruck und Puls ausübten, 30 Prozent des Hämoglobins oxydieren. Bei vergleichbar wirksamen Natriumnitritdosen , wie sie therapeutisch empfohlen werden, kam es zu Kollapserscheinungen. Die Methämoglobinbildung erreichte im Verlauf von 30 Minuten maximal nur eine Konzentration von 6 % (Weger 1969; Kiese et al.1968).
Anstelle von Methämoglobinbildnern wird von manchen Autoren die Anwendung von Kobaltverbindungen: Hydroxocobalamin (Mushett et al. 1952), Kobalt-EDTA und Kobalthistidin (Paulet 1957) empfohlen, die den Vorteil besitzen, schon direkt im Plasma mit dem Cyanid unter Komplexbildung zu reagieren (Friedberg 1968).
Ihre Anwendung scheint jedoch nicht ungefährlich zu sein: Die Applikation von Kobaltverbindungen ohne vorherige HCN-Gabe bewirkt nach Weger (1964) eine Senkung der Atemfrequenz und eine Verminderung der Durchblutung der A.carotis.

Kobalt-EDTA und Kobalthistidin zeigen diese Wirkungen in größerem Ausmaß als Hydroxocobalamin. Kobalt-EDTA bewirkt, in therapeutisch notwenigen Dosen, den Tod der Versuchstiere innerhalb von 40 Minuten (Weger 1969; Offterdinger und Weger 1969).
Vergleicht man die Wirkungsgeschwindigkeit und die Entgiftungskapazität von 4-Dimethylaminophenol und Kobalthistidin anhand der Blausäure-Exhalation, so zeigt sich, daß 4-Dimethylaminophenol eine gleichhohe Wirkungsgeschwindigkeit bei bedeutend längerer Wirkungsdauer aufweist als Kobalthistidin(Schwarzkopf und Friedberg 1970). Schwarzkopf und Friedberg weisen jedoch auf eine zusätzlich Gefährdung eines Cyanidvergifteten durch den höheren Methämoglobingehalt im Blut hin, der mit 4-Dimethylaminophenol erzeugt wird.

1.4.2. Die Behandlung der chronischen Cyanidvergiftungen

Bei den Erkrankungen, die auf einer chronischen Zufuhr von Cyanid beruhen, muß als erste Maßnahme die weitere Zufuhr der Blausäure unterbunden werden. Die medikamentöse Behandlung besteht in neuerer Zeit in der Verabreichung großer Dosen von Hydroxocobalamin.
Zur Behandlung der Tabakamblyopie wurden im Laufe der Zeit die verschiedensten Möglichkeiten versucht (siehe auch Silvette 1960):
Anwendung von Strychnin (Chisholm 1878), Kaliumjodod zusätzlich zu Strychnin (Buxton 1888), vasodilatierende Nitrite in Form von Amylnitritinhalationen (Powers 1886) und Gabe von anderen Nitriten (Turtz 1933),Acetylcholin (Cragg 1936), Sedativa, besonders Codein (Loureiro 1865), i.m. Injektionen von Lecithin (Danis 1912).
Dieser Katalog spiegelt die damalige Unkenntnis über die Ätiologie der Erkrankung wieder. Spätere Autoren hatten bereits eine Vorstellung über die Notwendigkeit einer Vitaminzufuhr, so ließ Caroll (1937) seine Patienten weiterrauchen und weitertrinken, verabfolgte ihnen aber gleichzeitig eine Diät mit hohem Vitamingehalt, unterstützt durch zermahlene

Brauereihefe, Hefeextrakt, Weizenkeime. Lebertran oder Injektionen von Leberextrakten, Thiamin und Vitaminen der B-Gruppe. Gottlieb (1941, 1942) beschrieb einen Fall von Tabak-Alkohol-Amblyopie, der durch Gaben von Thiamin und Vitaminen der B-Gruppe erfolgreich behandelt wurde, obwohl der Patient weiterrauchte. Maxwell(1953) publizierte die erfolgreiche Behandlung zweier Fälle von Tabakamblyopie mit Hilfe einer Diät mit Zusätzen von Thiamin, bei einer Verminderung des Tabak- und Alkoholkonsums.
Wokes empfahl 1958 aufgrund von Überlegungen zur Ätiologie der Tabakamblyopie die Gabe von Vitamin B_{12} per os in häufigen kleinen Dosen.
Die Wirkung von Hydroxocobalamin und Cyanocobalamin wurde in neuerer Zeit in experimentellen und klinischen Arbeiten untersucht.
Die Vorbehandlung von Mäusen mit 50 mg/kg Hydroxocobalamin verhindert die nach i.p.Verabreichung von 5,5 - 8,0 mg/kg Kaliumcyanid auftretenden toxischen Symptome und den Tod der Tiere. Cyanocobalamin zeigt diesen Schutzeffekt nicht. War bei den Tieren durch die Cyanidvergiftung bereits ein Atemstillstand und Bewußtlosigkeit eingetreten, erholen sich die meisten Tiere rasch nach Gabe von Hydroxocobalamin. Verabfolgt man Mäusen Kaliumcyanid und danach Hydroxocobalamin, so erscheint innerhalb von 2,5 Stunden ein Teil des Cyanids im Harn als SCN^-(3,5%), als freies Cyanid(0,7%) und als Cyanocobalamin (9,6%) (Mushett et al.1952).
Bei der Behandlung von Ratten nach s.c. Verabreichung von KCN bis zu 4 mg täglich 3 Wochen lang erwies sich Hydroxocobalamin dem Cyanocobalamin deutlich überlegen. Die SCN^--Ausscheidung im Harn stieg bei den Tieren an, am größten war der Anstieg bei der mit Hydroxocobalamin behandelten Gruppe. Die histologische Untersuchung des ZNS ergab eine Demyelinisierung bei den unbehandelten Tieren. Die gleichzeitige Verabreichung von Hydroxocobalamin schützte die Tiere vor diesen Veränderungen, nicht jedoch die Verabreichung von Cyanocobalamin. Die Autoren dieser Untersuchung (Smith und Duckett 1965) sind der Meinung, daß diese außergewöhnliche

Wirkung auf einen, über die bloße chemische Reaktion zwischen Cyanid und Hydroxocobalamin hinausgehenden, Wirkungsmechanismus zurückzuführen sein müsse. Die Verfasser diskutieren eine allgemeine Schutzfunktion des Vitamin B_{12} auf das Myelin.

Zwar bessern sich die meisten Fälle von Tabakamblyopie, wenn der Patient das Rauchen aufgibt oder wenigstens reduziert, jedoch genügt diese Maßnahme oft nicht.(Griffith 1897). Bei Rauchern, die uneingeschränkt weiterrauchten, besserte sich unter Cyanocobalamin die Amblyopie bedeutend schneller als bei bloßer Rauchabstinenz. Heaton et al. (1958) verabreichte 100 µg Cyanocobalamin parenteral zweimal wöchentlich einen Monat lang, weitere zwei Monate lang in 14 tägigem Abstand und schließlich diese Dosis in monatlichen Intervallen. Eine Beendigung nach 6 Monaten hält er für angebracht, wenn keine pathologischen klinischen Erscheinungen mehr vorliegen. Da handelsübliche Präparate von Cyanocobalamin geringe Mengen von Hydroxocobalamin enthalten, kann auch diese Verbindung bei Therapieversuchen mit " Cyanocobalamin" die eigentlich wirksame Substanz sein (Smith und Duckett 1965).

Chisholm et al.(1967) faßte Patienten mit Tabakamblyopie in zwei therapeutische Gruppen zusammen. Eine wurde durch i.m. Gabe von Hydroxocobalamin, die andere mit Cyanocobalamin behandelt. Die Besserung der Sehschärfe bei der mit Hydroxocobalamin behandelten Gruppe war signifikant höher als bei der Patientengruppe mit Cyanocobalamintherapie. Auch das Farbensehen besserte sich in stärkerem Umfang unter Hydroxocobalamintherapie im Vergleich zur Cyanocobalaminbehandlung. Bei Patienten, die weiterrauchten, war unter der Therapie mit Cyanocobalamin in keinem Fall eine volle Heilung zu erzielen, wohl aber unter der Behandlung mit Hydroxocobalamin.

Bronte-Stewart et al.(1968) berichten über die Behandlung eines Patienten mit metabolischer Encephalopathie, Tabakamblyopie und einem Lungenabszeß. Die Encephalopathie sprach auf die Behandlung mit Cyanocobalamin an, die Tabakamblyopie

dagegen besserte sich solange nicht, bis nicht Hydroxocobalamin verabfolgt wurde.
Diesen klinischen Besserungen gehen biochemische Veränderungen im Körper der Patienten parallel.
Chisholm und Pettigrew (1970) konnten nachweisen, daß sich die Plasma-Thiocyanatkonzentrationen ihrer Patienten nach 6 monatiger Therapie mit Hydroxocobalamin signifikant erhöhen und die Werte bei gesunden Rauchern erreichen. Auch im Urin ist die Thiocyanatausscheidung erhöht.
Nach Kommerell und Castrillón-Oberndorfer (1968) scheint das folgende Behandlungschema bei der Tabakamblyopie begründet zu sein (übereinstimmend mit dem Therapievorschlag für Perniciosa-Kranke von Glass(1964), Heinrich 1964), Walter und Castrillón-Oberndorfer(1968)):
Jeden 2. Tag 1 Ampulle Hydroxocobalamin (z.B. Aquocytobion^{R}) à 500 µg i.m., 22 Injektionen
Dauertherapie mit einer Ampulle à 500 µg Hydroxocobalamin monatlich
Unter dieser Therapie kann das Sehvermögen wesentlich gebessert werden, selbst wenn eine Tabak- und Alkoholabstinenz nicht zu erreichen ist.

Zur Behandlung der Leber'schen Optikusatrophie empfehlen Adams und Mitarb.(1966) neben dem strikten Rauchverbot und der energischen Behandlung etwaiger Infektionen als Cyanidquelle den Einsatz massiver Dosen von Hydroxocobalamin.

Chisholm und Pettigrew (1970) fanden nach 12 monatiger Behandlung dieser Patienten mit Hydroxocobalamin einen Anstieg der Thiocyanatkonzentrationen im Plasma und eine Erhöhung der Thiocyanatausscheidung im Urin, wie bei der Behandlung der Tabakamblyopie. Die Verbesserungen des Sehvermögens waren dabei jedoch nur gering.

2. Eigene Untersuchungen

2.1. Problemstellung

Der Stoffwechsel des Cyanids hat bisher wenig Beachtung gefunden, erst seit die Ätiologie der in der Literaturübersicht erwähnten Erkrankungen mit einer chronischen Cyanidvergiftung in Verbindung gebracht wurden, ist die Frage nach einer eventuellen Störung bei der Entgiftung der Blausäure aufgeworfen worden. Die erwähnten pathologischen Zustände (Tabakamblyopie, Leber'sche Optikusatrophie, Retrobulbärneuritis bei perniciöser Anämie, nigerianische ernährungsbedingte ataktische Neuropathie) sind seltene Krankheitsbilder, doch werden mit dem Tabakrauch erhebliche Mengen an Cyanid aufgenommen und es erscheint möglich, daß Cyanid seinerseits ein Bestandteil des "Risikofaktors" Zigarettenrauch sein könnte, ähnlich wie CO. In diesem Zusammenhang sei auf die erst kürzlich bekanntgewordene Korrelation zwischen dem Auftreten einer Arteriosklerose, hohem Blutcholesteringehalt und CO-Hämoglobingehalt bei Rauchern hingewiesen (Kjeldsen). Ist der Stoffwechsel des Cyanids aus diesen Gründen von präventivmedizinischem Interesse, so gibt es auch von seiten der Biochemie ein Interesse an dem Schicksal dieser Substanzen im Organismus. Der menschliche Organismus ist mit einem Entgiftungsmechanismus für Cyanid ausgerüstet, der für große Mengen Cyanid ausgelegt ist, welche,außer in Vergiftungsfällen,nicht aufgenommen werden. Es ist zu fragen, aus welchen Gründen ein solcher Mechanismus in der Evolution entwickelt wurde. Hier wäre die Möglichkeit der Entgiftung von Cyanid, das sich aus der Uratmosphäre erhalten hatte, zu ventilieren.

Es sollte daher, am Beispiel der Zufuhr von HCN durch Tabakrauch, der Weg des Cyanids im Organismus verfolgt werden, die Beeinflussung der Entgiftung durch Nikotin beobachtet und auch die oben erwähnte Frage nach der evolutionären Grundlage eines Hauptenzyms bei der Entgiftung,der Thiosulfat-Sulfurtransferase,beantwortet werden.

Im einzelnen sollte untersucht werden:

1. Um den Weg des Cyanids aus dem Rauch im Organismus zu verfolgen, sollte als erstes versucht werden, das Cyanid im Plasma nachzuweisen. Da noch keine störungsfreie Methode zur Bestimmung von Cyanid zur Verfügung stand, mußte eine solche entwickelt werden.

2. Daß Cyanid bei der Entstehung von einigen Erkrankungen, vor allem der Tabakamblyopie, als Bestandteil des Rauches eine Rolle spielt, scheint erwiesen zu sein. Es ist noch nicht untersucht, ob andere Bestandteile des Tabakrauches bei längerer Einwirkungsdauer mit dem Entgiftungssystem des Cyanids interferieren und so eventuell die aktuelle Cyanidkonzentration erhöhen, denn Patienten mit Tabakamblyopie zeigen, obwohl sie starke Raucher sind, Plasmathiocyanatwerte, die im Bereich derjenigen von Nichtrauchern liegen, während gesunde Raucher erheblich höhere Spiegel aufweisen (Foulds et al. 1968). Dies deutet darauf hin, daß bei diesen Patienten die Entgiftung des Cyanids zu Thiocyanat gestört ist.
Die Auswirkung des Tabakrauches auf ein Schlüsselenzym der Cyanidentgiftung zu SCN, dieThiosulfat-Sulfurtransferase war daher zu untersuchen. Dabei interessierte einmal die Wirkung des Tabakrauches in Abhängigkeit von seiner Zusammensetzung auf das Enzym allgemein, als auch die Wirkung der pharmakologisch im Vordergrund stehenden Substanz, des Nikotins.

3. In Anbetracht der meist langen Expositionsdauer der Patienten, sollte an Tieren, denen über eine Zeitdauer von mehreren Jahren Nikotin verabfolgt wurde, das Alkaloid in seiner Wirkung auf die Thiosulfat-Sulfurtransferase untersucht werden.

4. Die Einwirkungen des Nikotins auf das Enzym im Auge, einem Manifestationsort der Tabakamblyopie, ist bisher nicht untersucht worden, deshalb sollte auch diese Fragestellung geprüft werden.

5. Da, wie erwähnt, die hohe Enzymausstattung ihre Erklärung in einer entwickelungsgeschichtlich-begründeten Notwendigkeit beruhen können, sollte das Vorkommen und die Aktivität der Thiosulfat-Sulfurtransferase sowie des endogenen Thiosulfats in Tieren aus verschiedenen Entwicklungsstufen untersucht werden.

2.2. Methodik

2.2.1. Eine einfache Methode zur Bestimmung von Cyanid

Es sind eine Reihe kolorimetrischer, titrimetrischer, polarographischer und gas-chromatographischer Methoden zur Cyanidbestimmung beschrieben worden. Die erste titrimetische Methode stammt von J. von Liebig und basiert auf einer Trübungsmessung von Silbercyanid. Neben einigen polarograhischen Methoden wurden in überwiegendem Maße kolorimetrische Methoden beschrieben und angewandt. Ein Teil von ihnen schließt im Ablauf der Reaktion die Bildung eines Metallkomplexes ein.
Eine der am häufigsten verwendeten Methoden ist die Methode von Aldrige(1944), die auf der König´schen Reaktion basiert, bei der Cyanogenbromid und -chlorid mit Pyridin und aromatischen Aminen unter Farbstoffbildung reagiert. Von dieser Methode existieren mehrere Modifikationen.

Am Schluß einer Übersicht über die vorhandenen Methoden, in welcher die Literatur über die oben angeführten Methoden berücksichtigt ist, fordern Bark und Higson (1963) eine Verbesserung der vorhandenen kolorimetrischen Methoden in folgender Hinsicht:
1. Es müßte eine ein- oder mehrstufige kolorimetrische Methode entwickelt werden, die den Zeitaufwand der bisherigen Methoden verringert,

2. diese Methode sollte als Routinemethode zur Erfassung von Cyaniden im Mikrogrammbereich verwendet werden können,

3. falls die König´sche Reaktion verwendet wird, sollten nicht carcinogene Verbindungen verwendet werden,

4. Verbindungen sollten Verwendung finden, die stabiler sind und einen höheren molaren Extinktionskoeffizienten besitzen als Pyrazolon und Benzidin.

Die Einführung nicht-carcinogener Amine wurde durch Bark und Higson (1964) bereits vorgenommen. Sie verwendeten anstelle von Benzidin p-Phenylendiamin, die anderen Forderungen konnten bisher nicht erfüllt werden.

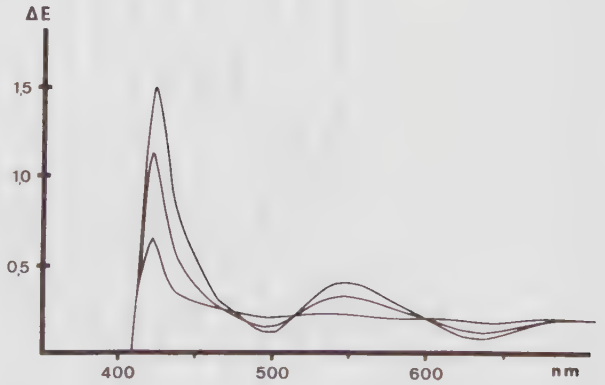
Wie erwähnt, erfordert die Problemstellung dieser Arbeit eine schnelle Methode, welche die von Bark und Higson geforderten Kriterien möglichst weitgehend erfüllen sollte. Außerdem sollte mit dieser Methode nur CN^--Ionen, aber nicht Thiocyanat erfaßbar und auf die Bestimmung von Cyanid im biologischen Material anwendbar sein. Das Austreiben des CN^- durch starkes Ansäuern sollte vermieden werden.

2.2.1.1. Prinzip

Seit 1920 wird Hämoglobin als Cyan-Methämoglobin bestimmt (Stadie 1920). Da das Cyan-Methämoglobin ein stabiles Hämoglobinderivat ist, konnte das Prinzip der Cyan-Methämoglobinbildung benützt werden, um eine Methode zu erarbeiten, die es erlaubt, kleine Mengen von Cyanid zu bestimmen. Mit einem geeigneten Oxydationsmittel wird Hämoglobin zu Methämoglobin (Hämiglobin, Ferrihämoglobin) oxydiert. Dieses bildet mit freiem Cyanid einen stabilen Komplex. Anhand einer Eichkurve oder durch Mitführen eines Standards ist die vorhandene Menge CN^- zu ermitteln bzw. zu errechnen.

Die Abbildung zeigt die Absorptionskurve einer unter den Bedingungen der vorliegenden Methode angefertigten Cyan-Methämoglobinlösung, nach Zugabe verschiedener Mengen von Cyanid, gemessen gegen eine Methämoglobinlösung. Aufgrund dieses Spektrums wurde die optimale Wellenlänge 422 nm bei der Bestimmung gewählt (Abb. 2)
Störungendurch die Bildung von Nitroso- Methämoglobin werden durch die Messung gegen den Leerwert weitgehend vermieden.

Abbildung 2 : Absorptionsspektrum der Cyanmethämoglobinlösung



Methämoglobinlösungen, nach Zugabe verschiedener Mengen von Cyanid gegen den Leerwert gemessen

2.2.1.2. Reagentien:

1. Rinderhämoglobin, lyophilisiert, rein (Proteasensubstrat nach Anson, Firma Serva, Heidelberg)
Lösung: 0,34 g/100 ml (ca. 5×10^{-6} M)

2. Natriumnitrit p.a.

Lösung: 3,45 mg/100 ml (5×10^{-4} M) in Aqua bidest. Der pH-Wert der Lösung soll unter 7 liegen, pH 6 jedoch nicht unterschreiten; die Verwendung geeigneter Puffer ist möglich, z.B. 0,1 M Phosphatpuffer pH 6,9.

3. KCN-Lösung in Aqua bidest. zum Anlegen von Eichkurven in entsprechenden Konzentrationen.

2.2.1.3. Durchführung

0,034 g Hämoglobin werden in der Natriumnitritlösung gelöst und mit Aqua bidest. und einer geeigneten Pufferlösung auf 100 ml aufgefüllt (Methämoglobinreagens).
Der Meßansatz wird wie folgt durchgeführt:

a. zu 4 ml Methämoglobinreagens werden 0,5 ml der Probe gegeben, durchgemischt und 30 Minuten bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Danach wird, nicht später als 30 Minuten gegen einen Ansatz von 4 ml Methämoglobinreagens, mit 0,5 ml Aqua bidest. vermischt, gemessen.
b. bei Bestimmung von Cyanid in Lösungen mit von Wasser abweichender optischen Dichte müssen folgende Messungen durchgeführt werden:
   A. 4 ml H_2O + 0,5 ml Probe gegen H_2O
   B. 4 ml Methämoglobinreagens + 0,5 ml Probe gegen H_2O
   B - A = Extinktion gemäß der Cyanidkonzentration in der Probe

Eichkurven sind entsprechend den oben angeführten Meßansätzen und den entsprechenden Cyanidkonzentrationsbereichen anzulegen.

2.2.1.4. Zuverlässigkeit der Methode

Eichkurve

Die Eichkurve für den Bereich 0,1 bis 1,5 µg verläuft linear. Die Extinktion ist 30 Minuten nach Ansatz,für weitere 30 Minuten mindestens,von gleichem Wert.

Präzision und Richtigkeit

Bei 10 Bestimmungen von KCN, welches Serum zugesetzt wurde, wurde 0,59 µg CN^- ± 0,06 ($\bar{x}$ ± s) gefunden.
Die gemessenen Werte entsprechen einer Wiederfindung von 80 %. Der Variationskoeffizient beträgt 4,87.
Bei 10 Bestimmungen von Cyanid im Hauptstromrauch einer Zigarette, aufgefangen in einer 0,1 N NaOH-Lösung, ergab sich ein Mittelwert von 100,5 ± 0,7 µg CN^- ($\bar{x}$ ± s).
Der Variationskoeffizient betrug 0,68.
CN^- wird in der Waschflasche vollständig absorbiert (Artho und Koch 1969).

Spezifität

Eines der wesentlichsten Merkmale der Methode ist, daß Thiocyanate nicht miterfaßt werden. SCN^- in Konzentrationen von 0,2 bis 2,0 mg übt keinen Einfluß auf die Bestimmung von Cyanid (0,5 µg/ 0,5 ml) aus.

2.2.1.5. Anwendungsbeispiel

Der Cyanidgehalt des Hauptstromrauches von Blend- und Marylandzigaretten wurde untersucht. Der Rauch wurde durch eine Gaswaschflasche geleitet, die mit 50 ml einer 0,1 N NaOH-Lösung gefüllt war. Die Zigaretten wurden auf 23 mm Stummellänge mit Hilfe einer Pumpe abgeraucht. Die Zugdauer betrug 2 sec /min.

Zur Bestimmung des Cyanids wurde 0,5 ml der Lösung entnommen und nach der vorliegenden Methode bestimmt. Dabei ergaben sich folgende Werte:

Tabelle 4 : Gehalt von CN^- im Hauptstromrauch von Zigaretten
Angaben in µg CN^-/g abgerauchten Tabaks

	n	$\bar{x}$	Bereich	s
Marylandzigaretten	10	119	57-180	42
"German-blend"- Zigaretten	10	71	43-89	16

Die mit dieser einfachen Methode ermittelten Werte an Cyanid im Hauptstromrauch stimmen größenordnungmäßig mit den Werten anderer Autoren (Artho und Koch 1969) überein, welche mit aufwendigeren Methoden arbeiteten. Auffallend ist die sehr starke Schwankung zwischen den einzelnen Zigaretten gleicher Fertigung. Dies wurde auch von Artho beobachtet. Diese Erscheinung könnte auf die nicht-optimale Methode zur Erfassung des flüchtigen CN^- oder auf die nicht exakt steuerbare Pyrolyse zurückgeführt werden.

2.2.2. Bestimmung der Aktivität der Thiosulfat-Sulfurtransferase und andere Methoden

Zur Bestimmung der Aktivität der Thiosulfat-Sulfurtransferase wurde die Methode von Sörbo (1953 a) zitiert nach Lang (1966), mit geringen Modifikationen (Schievelbein et al. 1969, Schulz 1968) verwendet.

2.2.2.1. Reagentien:

Lösung von:

1. 0,125 M Natriumthiosulfat
2. 0,2 M Trispuffer pH 8,6
3. 0,25 M Kaliumcyanid
4. Formaldehyd 35 %ig
5. Eisennitratreagens:
   100 g $(FeNO_3)_3$ x 9 H_2O und 200 ml einer 65 %igen HNO_3-Lösung in 1000 ml Aqua bidest.

2.2.2.2. Ausführung

0,5 ml Probe wird mit 0,5 ml Trispuffer, 1,0 ml Natriumthiosulfat und 0,5 ml Kaliumcyanid bei pH 8,6 und Zimmertemperatur (etwa $20^{\circ}C$) 5 min. lang inkubiert. Die Reaktion wird durch die Zugabe von Kaliumcyanid gestartet, gestopt wird sie durch die Zugabe von 0,5 ml Formaldehyd. Nach Zugabe des Eisennitratreagens bildet sich mit dem Rhodanid eine orangerote bis braune Komplexverbindung. 30 min später wird, nach Auffüllen mit 25 ml Aqua bidest., die Extinktion bei 460 nm in einer 10 mm Glasküvette gemessen. Zur Messung wurde das Zeiss-Spektralphotometer PM Q II benutzt.

Bei der Ausführung der Bestimmung ist eine bisher noch nicht beschriebene Fehlerquelle zu beachten. Läßt man den Ansatz, bestehend aus 0,5 ml Probe, 0,5 ml Trispuffer und 0,1 ml Natriumthiosulfat, einige Stunden stehen und

fügt die restlichen Lösungen des Ansatzes dann erst dazu, so entsteht eine violettbraune Färbung, die zu erheblichen Fehlern führen kann. Parallelansätze, die in einem Arbeitsgang ohne eine solche Pause durchgeführt werden, zeigen diesen Farbton nicht.

Organteile wurden je nach der Aktivität mit der 10, 20 oder 40 fachen Menge an bidestilliertem Wasser 10 min lang mit dem Ultra-Turrax Homogenisator zerkleinert. Die Homogenate wurden anschließend mit 50 000 g eine halbe Stunde lang zentrifugiert. Die Enzymbestimmung wurde im Überstand vorgenommen. Nach Untersuchungen von Schievelbein et al (1969) ist die Aktivität im Überstand bei diesem Vorgehen konstant.

Der endogene Rhodanidgehalt wurde nach der gleichen Methode bei jeder Enzymbestimmung miterfaßt. Zieht man vom Gesamtthiocyanatgehalt nach der Inkubation das endogene Rhodanid ab, so erhält man die durch das Enzym erzeugte Menge an Thiosulfat.

Bereits frühere Untersuchungen (Schievelbein et al. 1969, Schulz 1968) hatten ergeben, daß Durchleiten von Luft durch das Homogenat auf die Aktivität des Enzyms keinen Einfluß hat. Wird umgekehrt Zigaretten-Rauch durch eine Kaliumrhodanidlösung geleitet, so verändert sich der SCN^--Gehalt nicht im Vergleich zu einer unberauchten Kontrollösung. Bestandteile des Tabakrauches lassen also die Bestimmungsreaktion unbeeinflußt.

Der Proteingehalt in den Proben wurde mit Hilfe der Biuretmethode bestimmt (Weichselbaum, 1946).

Bei der statistischen Analyse der Ergebnisse wurde die Signifikanzberechnung mit dem t-Test nach Student vorgenommmen.

2.3. Ergebnisse

2.3.1. Versuche zum Nachweis von freiem Cyanid im Serum

Meerschweinchen wurden in einem Exsikkator (Methode: Schievelbein et al.1969) mit 5 bzw. 10 Zigaretten beraucht und anschließend dekapitiert. Innerhalb von 12-25 Minuten konnte kein freies Cyanid im Serum nachgewiesen werden. Da die Tiere durch die Rauchexposition stark beeinträchtigt waren, konnte die Zahl der Zigaretten für die Berauchung nicht mehr erhöht werden. Bei derselben Versuchsanordnung fanden Schievelbein et al.(1969) eine CO- Hb -Konzentration bei den exponierten Tieren von 25-35 %. Dies bedeutet die Rauchaufnahme in einer Größenordnung, die Mengen von Cyanid enthält, wie sie methodisch erfaßt werden können.
Das aufgenommene Cyanid scheint also, wenn überhaupt, nur äußerst kurz in freier Form im Serum vorzuliegen.

2.3.2. Der Einfluß von Tabakrauch auf die Thiosulfat-Sulfurtransferase in vitro

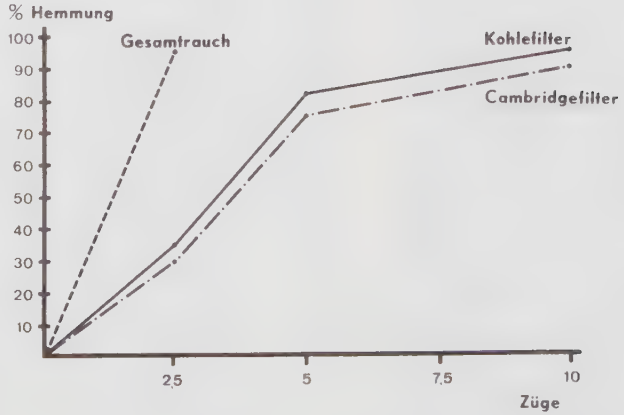
Die hohe Enzymausstattung der Meerschweinchenleber macht sie geeignet für Untersuchungen über Hemmungsmechanismen. Die Lebern weisen im Durchschnitt eine Aktivität von 1100 mE/mg Protein auf. Derartige Werte wurden auch von anderen Autoren beschrieben (Schievelbein et al. 1969; Schulz 1968).

Versuchsanordnung

"German-blend" Zigaretten ohne Filter aus einer Mischung von Virginia- und Orienttabaken wurden mit Hilfe einer Vakuumpumpe abgeraucht und zwar 2 Zigaretten gleichzeitig. Die Zugdauer betrug 2 sec, pro Minute wurde ein Zug abgeraucht, der Rauch einer Zigarette entsprach 0,81 g verbrannten Tabaks. Es wurde sowohl der Gesamtrauch, als auch Gas- und Partikelphase getrennt, auf die Homogenate zur Einwirkung gebracht. Cambridge - Glasfaserfilter

retinieren die Partikelphase, Kohlefilter mit aktivierter Kohle zwischen dünnen Celluloselagen halten die Gasphase zurück.
So konnte der Gesamtrauch und nach Zwischenschaltung der erwähnten Filter beide Phasen des Rauches auf das in einer Gaswaschflasche mit Fritte suspendierte Leberhomogenat (10 ml) einwirken.
Die Aktivität der Thiosulfat-Sulfurtransferase im Leberhomogenat normaler Meerschweinchen beträgt 1100 mE/mg Protein (Mittelwert, n=20)
Gesamtrauch, durch das Homogenat geleitet, hemmt bereits nach 2,5 Zügen zu 80-95 % (s.Abb.3). Wurde das Homogenat entweder der Gas- oder der Partikelphase ausgesetzt, so zeigte sich eine mit der Rauchmenge korrelierte, in beiden Phasen etwa gleich große Hemmung. Bei Berauchung mit der Partikelphase konnte eine 95 %ige Hemmung nach 10 Zügen gesehen werden, während die Gasphase nur eine 80 %ige Hemmung erzeugte.

Abbildung 3 : Hemmung der Thiosulfat-Sulfurtransferase im Homogenat aus Meerschweinchenleber durch Gesamtrauch, Gas- und Partikelphase



2.3.3. Der Einfluß von Nikotin auf die Thiosulfat-Sulfurtransferase und das endogene Thiocyanat in vivo

2.3.3.1. - bei langdauernder Zufuhr von Nikotin auf Organe des Kaninchens

Zu diesem Versuch wurden Organe von Kaninchen verwendet, welche in einem Langzeitexperiment zur Ätiologie der Arteriosklerose 20 Monate lang Nikotin erhielten. Die Tiere waren eingeteilt in eine Versuchs- und eine Kontrollgruppe. Die mit Nikotin behandelte Gruppe erhielt 20 Monate lang 1,14 mg Nikotin(freie Base) /kg Körpergewicht zweimal täglich Montag bis Freitag und einmal täglich an Samstagen und Sonntagen mit dem Trinkwasser. Diese Dosierung wurde im Hinblick auf menschliche Rauchgewohnheiten gewählt und entspricht etwa 60 Zigaretten täglich. Der Entzug von Trinkwasser in der Zeit vor der Nikotingabe bewirkt eine Aufnahme der ganzen Nikotindosis innerhalb von 30 Minuten. Die Konzentration des Nikotins im Blut der Tiere wurde bestimmt und es wurde nachgewiesen, daß noch kurz vor der zweiten Nikotingabe das Alkaloid im Blut nachzuweisen war.
Am Ende des Experiments wurden die Tiere durch einen Nackenschlag anästhesiert und aus der A.carotis entblutet. Unmittelbar danach wurden die Organe entnommen und bis zur Bestimmung tiefgefroren. Kurz vor der chemischen Analyse wurden die Organteile mit eisgekühltem bidestilliertem Wasser versetzt und homogenisiert, wie oben beschrieben (ausführliche Beschreibung der Versuchsbedingungen s. Schievelbein et al. 1969).
In den Tabellen 5 und 6 ist die Aktivität des Enzyms nach chronischer Nikotinzufuhr verzeichnet, in den Abbildungen 4 und 5 graphisch dargestellt.
Die Aktivität der Thiosulfat-Sulfurtransferase ist signifikant vermindert in der Niere und in der Glandula submandibularis(bezogen auf mg Protein).

Tabelle 5 : Aktivität der Thiosulfat-Sulfurtransferase in IE/gFG nach chronischer Nikotinzufuhr bei Kaninchen

Mittelwerte, Standardabweichung

	NIKOTIN			KONTROLLE			
	n	$\bar{x}$	s	n	$\bar{x}$	s	p
Leber	13	133	40,5	6	116	33,1	0,2
Niere	17	63	28,9	12	87	26,9	0,0125
Milz	18	2,5	0,7	11	2,5	0,8	0,475
Sub-mand.	19	29	8,5	10	34	8,7	0,1
Muskel	14	2,4	1,1	7	1,9	0,3	0,15
Klein-hirn	20	7,6	2,0	9	7,4	4,2	0,45

Tabelle 6 : Aktivität der Thiosulfat-Sulfurtransferase in mIE/mg Protein nach chronischer Nikotinzufuhr bei Kaninchen

Mittelwerte, Standardabweichung

	NIKOTIN			KONTROLLE			
	n	$\bar{x}$	s	n	$\bar{x}$	s	p
Leber	13	1219	349	6	1400	561	0,2
Niere	20	918	404	12	1206	379	0,05
Milz	17	45	14	11	41	14	0,25
Sub-mand.	20	240	69	11	347	176	0,0125
Muskel	13	41	15	7	44	16	0,4
Gehirn-homo-genat	17	397	114	10	400	59	0,475
Klein-hirn	18	324	115	9	287	205	0,3

Abbildung 4 : Wirkung von Nikotin auf die Aktivität der Thiosulfat-Sulfurtransferase im Langzeitversuch bei Kaninchen (IE/g FG)

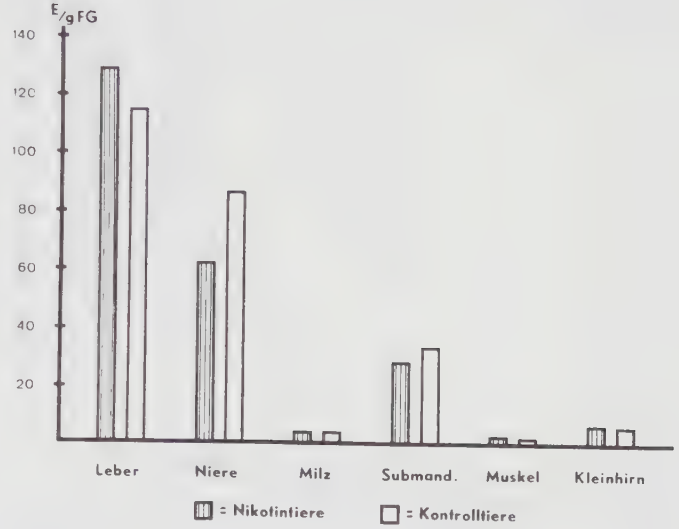
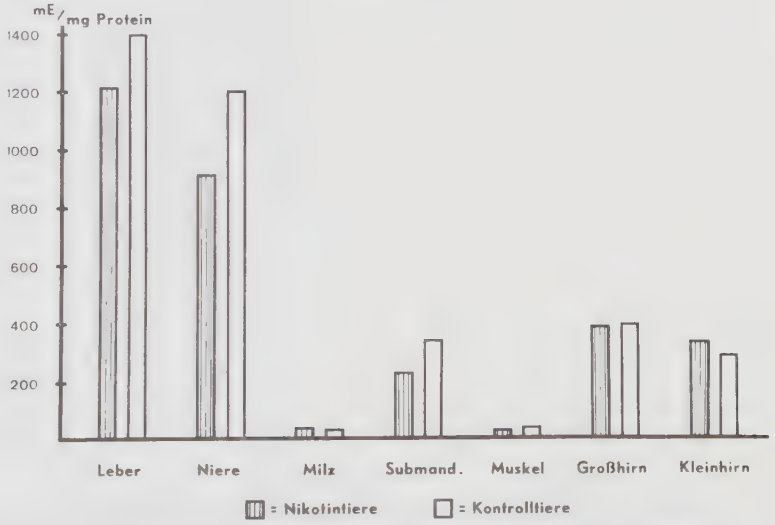


Abbildung 5 : Wirkung von Nikotin auf die Aktivität der Thiosulfat-Sulfurtransferase im Langzeitversuch bei Kaninchen (mIE/mg Protein)



Der Gehalt der Kaninchenorgane an endogenem Thiocyanat ist aus den Tabellen 7 und 8 sowie aus den Abbildungen 6 und 7 zu ersehen.
Der Gehalt an endogenem Thiocyanat ist nach chronischer Nikotinzufuhr im Vergleich zu den Kontrolltieren nicht verändert , mit Ausnahme der Glandula submandibularis (bezogen auf mg Protein). Dieses Organ enthält nach chronischer Nikotinzufuhr signifikant weniger Thiocyanat als die Kontrolltiere. Dieser Befund steht in Einklang mit der signifikant ernierdrigten Thiosulfat-Sulfurtransferase-Aktivität in diesem Organ.

Tabelle 7 : Endogenes Thiocyanat in µg SCN^-/g FG nach chronischer Nikotinzufuhr bei Kaninchen.

Mittelwerte, Standardabweichung

	NIKOTIN			KONTROLLE			
	n	$\bar{x}$	s	n	$\bar{x}$	s	p
Leber	13	465	90	5	412	72	0,15
Niere	20	646	321	12	555	379	0,25
Milz	19	454	132	10	394	121	0,15
Sub-mand.	20	939	293	11	938	443	0,4995
Muskel	14	460	158	7	514	273	0,3
Klein-hirn	20	399	149	11	442	272	0,3

Tabelle 8 : Endogenes Thiocyanat in µg SCN^-/mg Protein nach chronischer Nikotinzufuhr bei Kaninchen.

Mittelwerte, Standardabweichung

	NIKOTIN			KONTROLLE			
	n	$\bar{x}$	s	n	$\bar{x}$	s	p
Leber	14	5,1	3,1	6	6,1	2,2	0,3
Niere	20	9,8	5,8	12	7,6	4,8	0,15
Milz	18	8,7	5,0	11	7,3	3,6	0,25
Sub-mand.	20	7,7	2,8	11	10,4	5,4	0,05
Muskel	13	8,9	3,7	7	9,4	5,5	0,45
Gehirn-homo-genat	17	9,1	2,5	10	10,9	4,1	0,1
Klein-hirn	20	20,3	24,8	11	14,2	9,2	0,25

Abbildung 6 : Wirkung von Nikotin auf das endogene Thiocyanat im Langzeitversuch bei Kaninchen ($\mu g\ SCN^-/g$ FG)

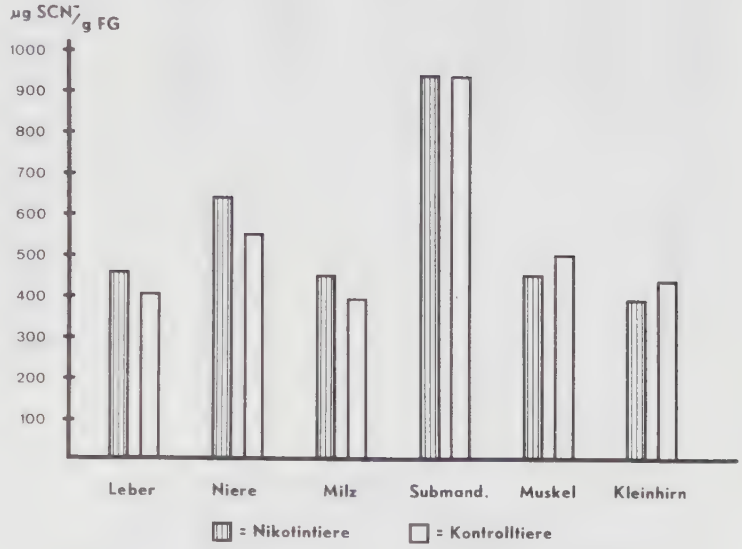
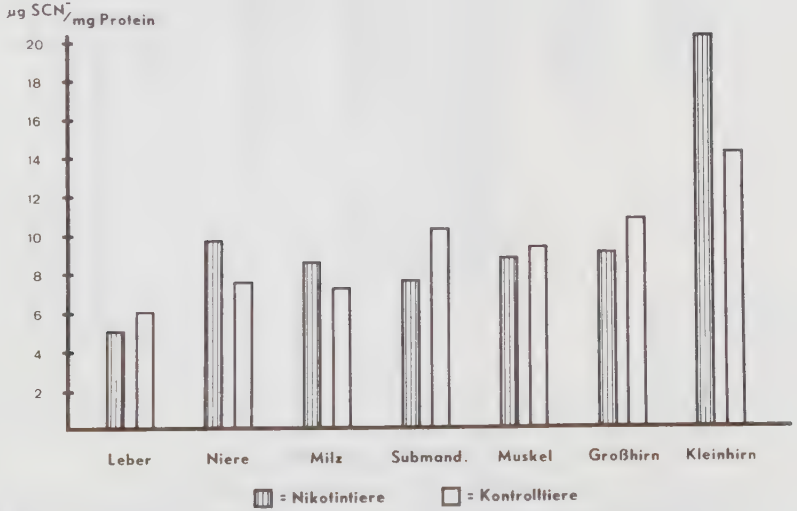


Abbildung 7 : Wirkung von Nikotin auf das endogene Thiocyanat
im Langzeitversuch bei Kaninchen
(µg SCN^-/mg Protein)



2.3.3.2. Der Einfluß von Nikotin auf die Aktivität der Thiosulfat-Sulfurtransferase und das endogene Thiocyanat im Meerschweinchenauge

Meerschweinchen (n = 5) mit einem durchschnittlichen Gewicht von 400 g wurde 7 Tage lang zweimal täglich jeweils 5 mg Nikotin(freie Base) in wässriger Lösung injiziert. Am 7. Tag, 30 Minuten nach der letzten Injektion wurden die Tiere durch einen Genickschlag getötet, ausgeblutet und die Augen entnommen. Für einen Messansatz wurde jeweils das Augenpaar eines Versuchstieres verwendet. Wegen der geringen Größe der Augen konnten die einzelnen Augenabschnitte nicht getrennt untersucht werden. Das Kammerwasser, der Glaskörper, die Retina und die Chorioidea wurden gemeinsam verwendet und unter Hinzufügen von Aqua bidest. in einer Verdünnung von 1 zu 10 homogenisiert. Die Augen von Kontrolltieren (n = 5) wurden in gleicher Weise präpariert.
Aus der Tabelle 9 ist zu ersehen, daß die Thiosulfat-Sulfurtransferase im Auge des Meerschweinchen, bezogen auf mg Protein, signifikant gehemmt ist.
Die Augen der mit Nikotin behandelten Tiere enthielten weniger endogenes Thiocyanat im Vergleich zu den Kontrolltieren. Ein noch kleineres p ergibt sich, wenn der Gehalt an Thiocyanat auf g Frischgewicht bezogen wird.

Tabelle 9 : Wirkung von Nikotininjektionen auf die Aktivität der Thiosulfat-Sulfurtransferase im Meerschweinchenauge

Mittelwerte, Standardabweichung

	NIKOTIN			KONTROLLE				
	n	$\bar{x}$	s	n	$\bar{x}$	s	p	Hemmung
IE/gFG	5	0,81	0,3	5	1,1	0,09	0,1	29 %
mIE/mg Protein	5	10,2	0,5	5	13,4	1,5	0,0025	25 %

Tabelle 10 : Wirkung von Nikotininjektionen auf das endogene Thiocyanat im Meerschweinchenauge

Mittelwerte, Standardabweichung

	NIKOTIN			KONTROLLE				
	n	$\bar{x}$	s	n	$\bar{x}$	s	p	Hemmung
µg SCN/g FG	5	184	16	5	252	22	0,0055	27 %
µg SCN/mg Protein	5	2,7	0,5	5	3,1	0,4	0,15	13 %

Um die Veränderungen der Aktivität der Thiosulfat-Sulfurtransferase nach Nikotinzufuhr an den einzelnen Abschnitten des Auges zu erfassen, wurde ein orientierender Versuch am Hund unternommen. Es konnten so Linse und Glaskörper getrennt untersucht werden. Als Versuchstier diente ein 20 kg schwerer ,4 Jahre alter Schäferhund. Das Tier wurde mit Nembutal^{R} narkotisiert, dann wurde ein Auge enukleirt. 30 Minuten später wurde mit einer Serie von Nikotininjektionen begonnen. Es wurden 8 Injektionen mit einer Nikotindosis von jeweils 5 mg (freie Base) in einem Abstand von 45 Minuten verabfolgt. 30 Minuten nach der letzten Nikotininjektion wurde das verbliebene Auge enukleirt. Beide Augen wurden unmittelbar nach der Entnahme bis zu Beginn des Meßansatzes tiefgekühlt aufbewahrt.
Die Ergebnisse sind in Tab. 11 und 12 verzeichnet. Wie aus den Tabellen ersichtlich ist, übt Nikotin in diesem Fall bei akuter Zufuhr keinen Einfluß auf die Aktivität des Enzyms und auf den Gehalt an endogenem Thiocyanat aus.

Tabelle 11 : Wirkung von akuter Nikotinzufuhr auf die Aktivität der Thiosulfat-Sulfurtransferase in der Linse und dem Glaskörper des Hundeauges

	NIKOTIN	KONTROLLE
IE/gFG :		
Linse	1,65	1,58
Glaskörper	1,60	1,64
mIE/mg Protein :		
Linse	5,2	5,2
Glaskörper	183	224

Tabelle 12 : Wirkung von akuter Nikotinzufuhr auf das endogene Thiocyanat in der Linse und dem Glaskörper des Hundeauges

	NIKOTIN	KONTROLLE
µg SCN/g FG :		
Linse	280	280
Glaskörper	200	280
µg SCN/mg Protein :		
Linse	8,8	9,3
Glaskörper	21.5	39,2

2.4. Die Aktivität der Thiosulfat-Sulfurtransferase und das Vorkommen des Thiosulfats in der Entwicklungsreihe der Tiere.

2.4.1. Die Stellung der untersuchten Tiere in der Entwicklungsreihe

In einer Rückschau auf die Entwicklung der Tierwelt kommt Wurmbach (1968) zu dem Schluß, daß wirklich die in vergleichend anatomischem und physiologischem Sinne als höher entwickelt bezeichneten Tieren die weniger höher entwickelten weitgehend ablösen und daß die aufgrund vergleichender Deduktion aufgestellten Verwandtschaftsbeziehungen und die realhistorische Entwicklung weitgehend übereinstimmen. Die Auswahl und die Einordnung der hier untersuhten Tiere nach dem natürlichen System nach Wurmbach berechtigt uns also zu Rückschlüssen auf die früher lebenden Tiere. In der Tabelle 13 ist die Stellung der untersuchten Tiere im natürlichen System eingetragen, welche hinsichtlich der in der Problemstellung angegebenen Fragestellung untersucht wurden.

2.4.2 Ergebnisse

Die untersuchten Organismen und Organe wurden unmittelbar nach der Tötung tiefgefroren und so bis zur Bestimmung aufbewahrt. Die Meerestiere, wie der Seestern, Seeigel, die Tintenschnecke (Sepia), der Tintenfisch, die Haie und die Rochen stammen aus dem Golf von Neapel.

In Abb. 8 ist die Enzymaktivität der Leber als Organ, in welchem vornehmlich die Entgiftung vorgenommen wird, aufgeführt. Wie aus der Abb. 8 zu sehen ist, besteht zwischen der Position in der entwicklungsgeschichtlichen Reihenfolge und der Aktivität der Thiosulfat-Sulfurtransferase in der Leber, bezogen auf mg Protein, kein direkter Zusammenhang.

In Abb. 9 sind die Enzymaktivitäten aller untersuchten Organe graphisch dargestellt, in Tabelle 14 die Enzymaktivitäten im gesamten untersuchten Material tabellarisch zusammengefaßt.

Tabelle 13 : Das Untersuchungsmaterial geordnet nach dem Grad der Differenzierung

BACTERIA	B.coli commune
PROTOZOA	Euglena viridis
METAZOA	
Aschelminthes :	Ascaris lumbricoides
Mollusca :	Sepia officinalis
Echinodermata :	Marthasterias glacialis (Seestern)
	Sphaerechinus granularis (Seeigel)
	Holothuria polii (Seegurke)
Chordata :	
Chondrichthyes :	Scylliorhinus stellaris
	Mustelus vulgaris
	Mustelus punctulatus
	Oxynotus centrina (Haifische)
	Raja stellata (Rochen)
Actinopterygii :	Tinca vulgaris (Schleie)
Amphibia :	Rana esculenta (Frosch)
Reptilia :	Testudo tabulata (Schildkröte)
Aves :	G.gallus domesticus (Huhn)
	Melopsittacus undulatus (Wellensittich)
Mammalia :	Canis lupus familiaris (Hund)
	Oryctolagus cuniculus (Kaninchen)
	Cavia (Meerschwein)

Abbildung 8 : Aktivität der Thiosulfat-Sulfurtransferase in der Leber von Organismen aus verschiedenen Evolutionsstufen

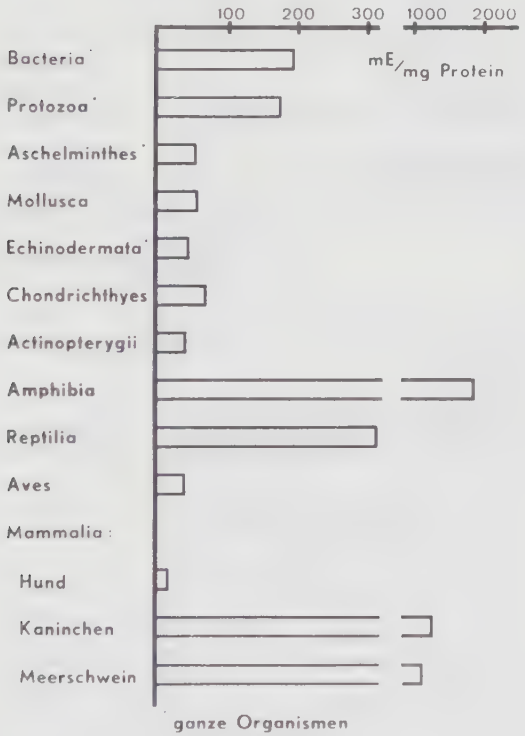
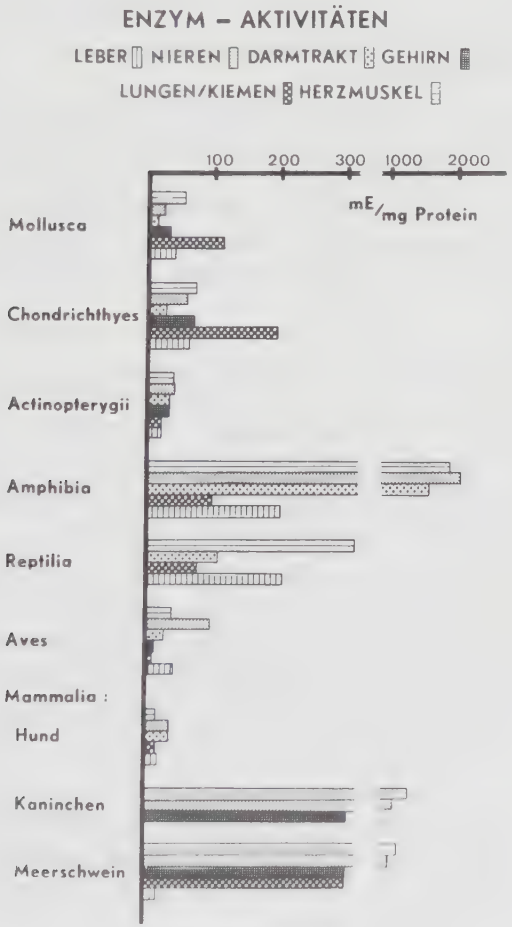


Tabelle 14 : Aktivität der Thiosulfat-Sulfurtransferase

Mittelwerte, mittlere Anzahl der Versuche = 21

Untersuchtes Material	Enzymaktivität in mIE/mg Protein					
	ganze Organismen					
BACTERIA						
B. coli commune	196					
PROTOZOA						
Euglena viridis	270					
METAZOA						
Aschelminthes						
Ascaris lumbricoides	55					
Mollusca	Kiemen Lunge	Verdau-ungs-trakt	Leber	Niere	Gehirn	Herz
Sepia officinalis						
Octopus vulgaris	114	12	56	24	34	66
Echinodermata						
Marthasterias glacialis		44				
Sphaerechinus granularis						
Holothuria polii						
Chordata						
Chondrichthyes :						
Scylliorhinus stellaris						
Mustelus vulgaris						
Mustelus punctulatus						
Oxynotus centrina						
Raja clavata						
Raja stellata	194	28	70	59	71	63
Actinopterygii						
Tinca vulgaris	24	34	40	42	31	20
Amphibia						
Rana esculenta	96	1251	1872	2054		191
Reptilia						
Testudo tabulata	75	106	315			205
Aves						
G.gallus domesticus						
Melopsittacus undul.	5	25	39	97	13	40
Mammalia						
Canis lupus famil.	17	37	17	37		21
Oryctolagus cunic.			1260	1012	304	
Cavia	304		1115	995	316	17

Abbildung 9 : Aktivität der Thiosulfat-Sulfurtransferase in Organen von Metazoen



Wieder sind die Organaktivitäten von Klasse zu Klasse sehr unterschiedlich hoch, jedoch sind sie innerhalb einer Klasse etwa gleich hoch. Die Mammalia scheinen eine Ausnahme zu machen, denn der Hund zeigt sehr kleine Aktivitäten, wie sie auch von den anderen Autoren bei diesem Tier festgestellt wurden (Himwich und Saunders, 1948; Lang, 1933).

Betrachtet man jedoch die große Differenz im Körpergewicht der untersuchten Hunde in Relation zu dem Gewicht der kleineren Säugetiere, wie Kaninchen und Meerschweinchen, so kommt die Thiosulfat-Sulfurtransferaseaktivität des Hundes in die Größenordnung der anderen beiden Säuger, wenn die Aktivität auf das Körpergewichtder einzelnen Säuger bezogen werden.

Das Muster der Organaktivitäten schwankt von Klasse zu Klasse. Es scheint, daß die Meerestiere in ihren Kiemen die höchste Aktivität besitzen, während die Tiere auf dem Festland in der Leber und in den Nieren die höchsten Thiosulfat-Sulfurtransferaseaktivitäten aufweisen. Die graphische Übersicht zeigt dies besonders deutlich.

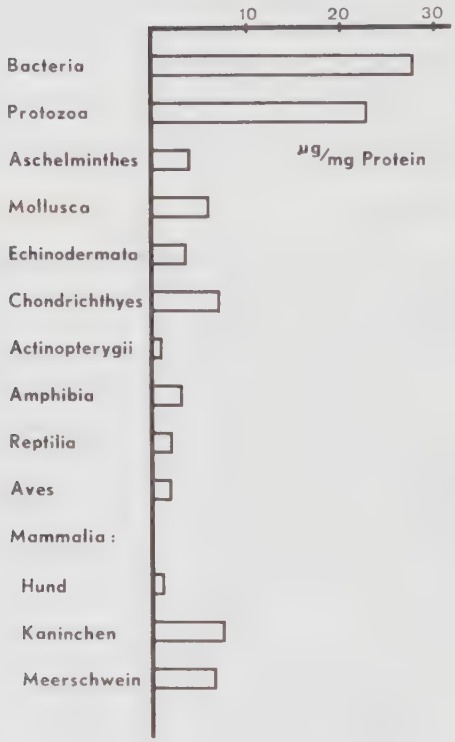
Die Konzentration an Thiocyanat zeigt die Abbildung 10 und Tabelle 15. Im Gegensatz zu den unterschiedlichen Enzymaktivitäten bewegt sich die Konzentration an Thiocyanat aller Species etwa in der gleichen Größenordnung; eine Ausnahme machen die Bakterien und die Protozoen, die einen relativ hohen Gehalt an Thiocyanat aufweisen.

Die erhobenen Befunde lassen den Schluß zu, daß die Hyothese, die Thiosulfat-Sulfurtransferese sei ein Relikt aus urgeschichtlicher Zeit, aufrechterhalten werden kann, denn in allen untersuchten Tieren fand sich eine nicht unbeträchtliche Aktivität dieses Enzyms.
Die hohen Enzymaktivitäten bei den Amphibien und Säugetieren mag die Folge eines spezies-spezifischen Stoffwechselvorgangs sein, der mit der alleinigen Cyanidentgiftung nicht mehr ausschließlich erklärt werden kann.

Tabelle 15 : Gehalt an Thiocyanat der einzelnen Spezies
Mittelwerte der Organe, mittlere Zahl der Versuche = 21

Spezies	Thiocyanatgehalt in µg/mg Protein
Bacteria	28
Protozoa	23
Metazoa	
Aschelminthes	4
Mollusca	6
Echinodermata	4
Chordata:	
Chondrichthyes	8
Actinopterygii	1
Amphibia	3
Reptilia	2
Aves	2
Mammalia:	
Hund	1
Kaninchen	9
Meerschweinchen	7

Abbildung 10 : Gehalt an Thiocyanat einzelner Spezies aus verschiedenen Evolutionsstufen



3. Diskussion

Die Übersicht über den Cyanidstoffwechsel wies auf, daß es innerhalb des Körpers ein verzweigtes Netz von Abbaumöglichkeiten für Cyanid gibt und daß Cyanid in der Natur zwar nicht ganz selten vorkommt, daß aber das Entgiftungspotential im Körper unverhältnismäßig groß ist gegenüber den Mengen an Cyanid, die üblicherweise aufgenommen werden. Diese Diskrepanz könnte ihre Erklärung darin finden, daß der Körper in früherer Zeit einmal mehr Cyanid zu entgiften hatte.
Cyanid und verschiedene Cyanverbindungen sollen beim Entstehen des Lebens auf der Erde eine wichtige Rolle gespielt haben. Dies wird von verschiedenen Arbeitsgruppen betont. Das bekannteste Experiment zur Simulation des ersten Schrittes der chemischen Evolution unternahm Stanley L. Miller (nach Franke und Graul 1969). Er ahmte eine Uratmosphäre nach, in dem er Wasserstoffgas, Wasserdampf, Ammoniak und Methan in einem Glaskolben mischte, in welchem er elektrische Entladungen auslöste.

Bei diesen und ähnlichen Versuchen fanden sich Glykolsäure, Milchsäure, Propionsäure, Bernsteinsäure, Methylharnstoff, mehrere Aminosäuren und vielfach auch Cyanwasserstoff (HCN). Weiterhin wurde auch Adenin nachgewiesen, bekanntlich selbst ein Baustein der Nukleinsäuren, andererseits auch Ausgangsprodukt für weitere Bausteine der Erbsubstanz.
Sanchez, Ferris und Orgel (1968) halten es für wahrscheinlich, daß Adenin und Guanin aus Tetrameren in Wasser gelöster Blausäure gebildet wurde. Zusätzlich betrachten sie den Frost als einen wichtigen Faktor bei der Entstehung dieser Verbindungen. Er sorgte durch die Auskristallisierung reinen Eises für eine Konzentrierung der Lösung und ermöglichte einen ungestörten Ablauf der Polymerisation von HCN in der gefrorenen Lösung. Solche Polymere können mit Hilfe des Sonnenlichts noch heute innerhalb eines nachmittags in vitro synthetisiert werden.

Für die präbiologische Synthese höherer organischer Baustoffe sind Katalysatoren von großer Bedeutung. Manche der spontan entstandenen Moleküle, unter anderem auch Cyanwasserstoff üben eine solche katalytische Wirkung aus. Cyanamid und Dicyanamid gelten in der tautomeren Form des Carbodimids als vorzügliches Kondensationsmittel um Oligo- und Polynukleotide, Oligo- und Polypeptide sowie Glykoside durch Wasserabspaltung aus den Komponenten darzustellen (Wallenfels 1969). Nach Müller und Parris (1964) bewirkt Kaliumcyanat die Umwandlung von Orthophosphat zu Pyrophosphat, jedoch nur an einer Apatitoberfläche.
Neuerdings wurde die These aufgestellt, daß Cyanoacetylen eine zentrale Rolle in der präbiologischen Synthese spielt (Sanchez et al. 1966).

Cyanoacetylen ist eines von den größeren Produkten die aus der Einwirkung einer elektrischen Entladung auf ein Gemisch von Methan-Stickstoff entsteht. Aus Cyanoacetylen wurde nach Behandlung mit Cyanat oder Cyanogen Cystosin gebildet. Weiterhin entstand Asparagin und Asparaginsäure unter Zugabe von Cyanid und Ammoniak.

Cyanovinylphosphat, das durch Addition von Phosphat an Cyanoacetylen erhalten werden kann, könnte nach Ansicht von Ferris ein präbiologisches phosphorylisierendes Agens sein. In einer wässerigen Lösung von Cyanovinylphosphat wird Orthophosphat zu Pyrophosphat und Uridin zu Uridin 5 - Phosphat umgewandelt.
Die angeführten Untersuchungen sollten zeigen, daß Cyanid auf unserem Planeten eine verbreitete Verbindung gewesen sein mußte. War dies auch beim Auftreten der ersten Formen von Lebewesen der Fall, so erscheint es möglich, daß bestimmte biologische Funktionen entsprechend geschützt werden mußten. Das Vorkommen der Thiosulfat-Sulfurtransferase ließe sich so erklären.
Einfache Formen des Lebens, z.B. Bakterium pumilus, sind ja bekanntlich gegenüber Cyanid sehr unempfindlich. In der

vorliegenden Untersuchung wiesen Bakterium Coli und Euglena gracilis mit Abstand die höchsten Werte an Thiocyanat auf. Dies läßt auf eine rege Verstoffwechslung von Cyanid schliessen. Höher organisierte Lebewesen haben sich die Fähigkeit zur Synthese von Thiocyanat-Sulfurtransferese erhalten, doch ist die Wirksamkeit dieses Enzyms wahrscheinlich durch sekundäre Veränderungen, z.B. veränderte Kompartimentierungen, eingeschränkt worden. Denn für Säuger ist Cyanid bekanntermaßen stark toxisch, trotz der relativ hohen Aktivität an Thiosulfat-Sulfurtransferase.
Dieses Phänomen wird auch bei anderen toxischen Verbindungen beobachtet, so besitzt z.B. die Taubenleber die höchste bekannte Entgiftungsfähigkeit für Nikotin. Zur gleichen Zeit ist Nikotin für die Taube außerordentlich toxisch. Auch hier wird an den Einfluß von Kompartimentierungen gedacht, die verhindern, daß in vivo Enzym und Substrat zusammenfinden, bevor die Toxizität sich auswirken kann.

Bei einer chronischen Zufuhr kleiner, subletaler Dosen spielt dies keine Rolle. Hier müßte bei schädigenden Einwirkungen des Giftes, in diesem Fall, des Cyanids, das entgiftende Enzym selbst gehemmt werden.

Eine chronische Cyanidzufuhr kommt im Regelfall in den zivilisierten Ländern nur durch die Aufnahme im Tabakrauch zustande. Hemmende Substanzen im Tabakrauch sind daher von besonderem Interesse.
Die hemmenden Einflüße sind , wie diese Untersuchung nachwies, in der Gas- und in der Partikelphase mit etwa gleich starker Wirkung vertreten.
Verläuft eine Cyanidzufuhr aus dieser Quelle über längere Zeiträume, so müssen auch Substanzen die den Abbau von Cyanid hemmen können, chronisch zur Einwirkung kommen. Daher war als Modellversuch nur ein Langzeitversuch geeignet. Mit einer 20 monatigen Zufuhr von Nikotin war diese Voraussetzung gegeben.
Interessanterweise ergab sich bei diesen Versuchen, daß gerade in der Glandula Submaxillaris eine signifikante Hemmung

der Thiosulfat-Sulfurtransferase und analog dazu eine Abnahme des Thiocyanatgehaltes festgestellt wurde, während andererseits fast durchwegs bei Rauchern erhöhte Thiocyanatspiegel im Speichel gefunden wurden.
Dies mag ein Hinweis sein auf die besonders starke Entgiftungsleistung dieser Drüse, die trotz Enzymhemmung noch größere Mengen an Cyanid entgiften kann, im Vergleich zu den Verhältnissen bei Normalpersonen.
Im Falle des zweiten Organs mit signifikanter Enzymhemmung, der Niere, ergeben sich auf den ersten Blick wiederum Widersprüche gegenüber anderen Autoren, die bei Rauchern von erhöhten Thiocyanatwerten im Urin berichten. Jedoch handelt es sich dabei wohl überwiegend um Thiocyanat, das bereits vor der Niere gebildet wurde.
Der hemmende Einfluß des Nikotins auf die Enzymaktivität in den oben angeführten Organen kann als normale Reaktion auf Nikotinzufuhr gelten.Betrachtet man das Verhältnis von Erkrankungen an Tabakamblyopie und Leber'scher Optikusatrophie bei Rauchern und setzt daneben die Gesamtzahl der davon nicht betroffenen Raucher, so sind noch zusätzliche Faktoren anzunehmen, die die Manifestation einer solchen Erkrankung herbeiführen.
Derartige Faktoren wurden in der einleitenden Übersicht bereits erwähnt. Es stehen Störungen im Vitamin B_{12} - Stoffwechsel zur Diskussion, sowie ein "inborn error" im enzymatischen Abbau des Cyanids. Eine solche mangelnde Entgiftung mag ohne Cyanidbelastung nicht in Erscheinung treten. Steigt jedoch die Cyanidzufuhr an, und wird, wie hier gezeigt, zugleich mit dem Tabakrauch auch der Abbau über die, im Falle eines "inborn error" möglicherweise geschädigten Thiosulfat-Sulfurtransferase gehemmt, so ist das Auftreten von chronischen Vergiftungssymptomen möglich.

4. Zusammenfassung

Einleitend wir das Vorkommen von Cyanid und der Cyanidstoffwechsel beschrieben sowie eine Übersicht über die Pathogenese derjenigen Erkrankungen vorgelegt, die bei chronischer Aufnahme von Cyanid auftreten können.
Im experimentellen Teil werden Versuche zur Beeinflussung der Entgiftung von Cyanid zu Thiocyanat beschrieben, um Fragen zum Mechanismus der Entstehung von Erkrankungen klären zu können, die durch Cyanidzufuhr bedingt sind. Von besonderem Interesse ist dabei die Tabakamblyopie.
Zur Bestimmung kleinster Mengen von Cyanid in biologischem Material wurde eine neue Methode entwickelt, die nur freies CN^- erfaßt und insbesondere durch SCN^- nicht gestört wird.

Im einzelnen wurden folgende Befunde erhoben:
1. Nach Exposition von Versuchstieren gegenüber Zigarettenrauch konnte kein freies Cyanid im Serum nachgewiesen werden.

2. Sowohl die Gas- als auch die Partikelphase des Tabakrauches üben eine etwa gleich große inhibitorische Wirkung auf die Aktivität der Thiosulfat-Sulfurtransferase in vitro aus.

3. Bei einem Langzeitversuch an Kaninchen wurde gezeigt, daß auch Nikotin allein in der Gl. submandibularis und der Niere die Thiosulfat-Sulfurtransferase signifikant hemmt.

4. Der Gehalt an endogenem Thiocyanat war bei diesem Langzeitversuch in einem Organ signifikant erniedrigt.

Hinsichtlich der Frage besonderer Veränderungen am Auge durch Nikotin bei der Entstehung der Tabakamblyopie wurde der folgende Befund erhoben:

5. Die Injektion von Nikotin bei Meerschweinchen bewirkt eine signifikante Hemmung der Thiosulfat-Sulfurtransferase des Auges.

Der Säugetierorganismus ist mit einer großen Entgiftungskapazität für Cyanid durch hohe Aktivitäten an Thiosulfat-Sulfurtransferase ausgestattet. Diese große Entgiftungskapazität kann durch die umweltbedingte Aufnahme von Cyanid in der Neuzeit nicht erklärt werden. Es besteht die Möglichkeit, daß Organismen in der Frühzeit der Erdgeschichte genötigt waren Cyanid, das noch aus der Uratmosphäre stammte, zu entgiften.

Zu dieser Fragestellung wurden Organismen aus allen Evolutionsstufen, von den Bakterien bis zu den Säugern untersucht.

6. Alle untersuchten Formen enthalten die Thiosulfat-Sulfurtransferase in von Klasse zu Klasse sehr unterschiedlichen Konzentrationen.

7. Meerestiere besitzen in den Kiemen die höchste Enzymausstattung. Tiere auf dem Festland weisen die höchsten Aktivitäten in Leber und Niere auf.

8. Bakterien und Protozoen besitzen einen relativ hohen Gehalt an Thiocyanat, während die höherentwickelten Spezies niedrige Konzentrationen in einer etwa einheitlichen Größenordnung zeigen.

5. Literaturverzeichnis

Adams H.J., Blackwood W., Wilson J.:
Brain 89 , 15 (1966)

Adams P., Chalmers T.M., Foulds W.S. und Withey J.L.:
Lancet 229 (1967)

Aldridge W.N.: Analyst 69 , 262 (1944)

Aldridge W.N.: Analyst 70 , 474 (1945)

Androp S: Psychiat. Quart.: 15 , 215 (1941)

Artho A., Koch R.: Beiträge zur Tabakforschung 5, 58 (1969)

Baggchi K.N. und Ganguli H.D.: Indian Med.Gaz. 78 , 40 (1943)

Barbetta M., Casnati G., Pavan M.: Mem.soc.entomol.

Bark L.S. und Higson H.G.: Analyst 88 , 751 (1963)

Bark L.S. und Higson H.G.: Talanta 11, 471 (1964)

Barker H.A., Toohey J.I., Smyth R.D.: Proc.nat.Acad.Sci.
44 , 1093 (1958)

Barnett H.J.M., Jackson M.V. und Spaulding W.B.:
J. Amer. med. Ass. 147 , 1554 (1951)

Barylko-Pikielna N., Pangborn R.M.: Arch.environm.Hlth.
17 , 739 (1968)

Bates G.M.: Americ. J. Psychiat. 120 , 1017 (1964)

Beavan G.H.: J. Pharmacol 2 , 733 , (1950)

Bettocchi S. und Marcelli F.: Quad. clin. ostet ginec.
18 , 285 (1963)

Bickel H.: Arch.Psychiat.Nervenkr. (Berlin) 53 , 1106 (1914)

Blum M.S., Woodring J.P.: Science 138 , 512 (1962)

Blum R.: Zschr. klin. Med. 107 , 61 (1928)

Bowler R.G.: Biochem. Journal 38 , 385 (1944)

Boxer G.E. , Rickards J.C.: Arch.Biochem.Biophys. 30 , 392
(1951)

Boxer G.E., Rickards J.C.: Arch.Biochem.Biophys. 39 , 7 (1952

Braekkan O.R., Njaa L.R., Utne F.:
Acta pharmacol. (Kbh.) 13 , 228 (1957)

Brink N.G., Kuehl F.A.jr., Folkers F.A:
Science 112 , 354 (1950)

Bronte-Stewart J., Chisholm J.A., Lewis D.R.H.:
Scot. med. J. 13 , 274 (1968)

Buxton A.St.C.: Lancet, Lond. 4 , 367 (1888)

Carrol F.D.: A.M.A. Arch. Ophth. 18 , 948 (1937)

Caviness V.S.: North Carolina M.J. 9 , 522 (1948)

Chen K.K. und Rose C.L.: J.Amer.med.Ass. 149 , 113 (1952)

Chen K.K., Rose C.L., Clowes G.H.A.: Proc.Soc.Exp.Biol.
31 , 252 (1933) a

Chen K.K., Rose C.L und Clowes G.H.A.:
J.Amer. med. Ass 100 , 1920 (1933) b

Chen K.K., Rose C.L., Clowes G.H.A.:
Amer.J.Med.Sci. 188 , 767 (1934)

Chisholm J.A., Bronte-Stewart J., Foulds W.S:
Lancet 450 (1967)

Chisholm I.A. und Pettigrew A.R.:
Trans.ophthal.Soc.U.K. 90 , 827 (1970)

Chisholm J.J.: Virginia M. Month. 5 , 749 (1878)

Clark A.: W.Afr. med.J.: 8 , 7 (1935)

Clark A.: J.Trop. Med. 39 , 269 und 285 (1936)

Clemedson C.J., Hultman H.J., Sörbo B.:
Acta physiol.scand. 32 , 245 (1954)

Clemedson C.J., Sörbo B., Ullberg S.:
Acta physiol.scand. 48 , 382 (1960)

Cohen H.: Lancet 1202 (1936)

Colenbrander M.C.: Ophthalmologica (Basel) 122 , 112 (1951)

Collens A.E.: Bull.Dept. Agr.Trinidad Tobago 14 , 54 (1915)

Conn Eric E.: Journal of Agricultural and Food Chemistry 17 , 519 (1969)

Conn J.B., Norman S.L., Wartmann T.G.: Science 113 , 658 (1951)

Conn J.B., Wartmann T.G.: Science 115 , 72 (1952)

Coon B.F.: J.econ. Ent. 37 , 785 (1944)

Corkill L.: N.Z.J.Sci.Technol. 22 , 65 (1940)

Correia A.: Bragantia 7 , 15 (1947), zit.Chem.Abstr. 1951, 11814

Cragg B.H.: Bristol Med.-Chir. J. 53 , 237 (1936)

Culverwell G.H.: Dublin J.M. Sc. 139 , 241 (1915)

Curran F.J.: Arch.Neurol.Psychiat. (Chic.) 37 , 699 (1937)

Dacre J.C., Tabershaw J.R.: Arch.environm.Hlth. 21 , 47 (1970)

Danis M.: Progr. méd. Paris 14 , 11 (1912)

Darby P.W., Wilson J.: Brit. J. Ophthal. 51 , 336 (1967)

Davidson B. und Westley J.: J.Biol.Chem. 240 , 4463 (1965)

Detoma F., Westley J.: Biochim.biophys. Acta 207 , 144 (1970)

Dilleman G. in "Handbuch der Pflanzenphysiologie"
W. Ruhland Hrsgb., Band 8 S. 1050,
Springer, Berlin 1958

Duke-Elder Sir S.: Text-Book of Ophthalmology Vol. VI
London (1954)

Eisner T., Eisner H.E. Hurst J.J., Kafatos F.C., Meinwald J.:
Science 139 , 1218 (1963)

Elmenhorst H., Schultz Ch.: Beitr.z.Tabakforschung
4 , 90 (1968)

Enghoff E.: Acta med. scand. 173 , 83 (1963)

Eschler J., Scharf F., Kunze H.J.:
Stoma (Heidelb.) 21, 159 (1968)

Ferguson F.R. und Critschky M.: J.Neurol. Psychopath.
9 , 127 (1928)

Ferris J.P.: Science 161 , 53 (1968)

Fiedler H., Wood J.L.: I. biol. Chem. 222 , 387 (1956)

Fischmann E.J. und Fischmann A.: J. Laborat. Clin. M.: 33 , 772 (1948)

Fleckscher R.: Zbl. inn. Med. 26 , 41 (1905)

Flury und Zernik (1931) zit, nach Friedberg K.D., Grützmacher J.: Wehrmed 6 , 61 (1968)

Foulds W.S., Chisholm J.A., Bronte-Stewart J.: Brit. J. Ophthal. 53 , 393 (1969)

Foulds W.S., Bronte-Stewart J.M., Chisholm J.A.: Nature (Lond.) 218 , 586 (1968)

Forte J.G. und Davies R.E.: Am.J.Physiol. 206 , 218 (1964)

Franke H.W., Graul E.H.: Dtsch.Ärztebl. Nr. 19 , 1369 (1969)

Frederiq E. und Neutrath H.: Amer.Chem.Soc. 72 , 2684 (1950)

Freeman A.G., Heaton J.M.: Lancet 908 (1961)

Friedberg K.D.: Arch. Toxikol. 24 , 41 (1968)

Friedberg K.D. und Grützmacher J.: Wehrmedizin 6 , 61 (1968)

Friedberg K.D., Schwarzkopf K.A.: Arch. Toxikol. 24 , 235 (1969)

Funder J. und Wieth J.O.: Acta physiol.scand: 71 , 168 (1967)

Funderburk C.F., Middlesworth van C.: Amer.J.Physiol. 215 147 (1968)

Geiger J.C.: J. Amer. med. Ass. 100 , 59 (1933)

Gettler A.O., Baine J.O.: Am.J.Med.Sci.195 , 182 (1938)

Glass G.B.J.: Pharmakotherapia 2 , 21 (1964)

Gleason M.N., Gosselin R.E., Hodge H.C., Smith R.P.: Aliphatic Thiocyanites, Section III, Seite 8 in Clinical Toxicology of Commercial Products. Acute Poisoning, 3rd Edn, Williams u.Wilkins, Baltimore. Md. (1969)

Goldstein F. und Rieders F.: Am. J. Physiol. 173 , 287 (1953) Conversion of Thiocyanate to cyanide by erythrocytic enzyme

Gottlieb B.: Brit. J. Ophth. 25 , 556 (1941)

Gottlieb B.: Lancet 547 (1942)

Griffith A.H.: Trans.ophthal.SocU.K. 7 , 81 (1897)

Guignard L.: Bull. Sci. Pharmacol 14 , 556 (1907)

Guldensteeden-Egeling C.: Arch.Ges.Physiol. 28 , 576 (1882)

Gustafson C.Jr., Lies T., Wagner-Jauregg T.: J.econ Ent. 46 , 620 (1953)

Halstrom F., Moller K.D.: Acta Pharmacol et Toxicol. 1 , 18 (1945)

Hamilton H.H., Ellis P.P., Sheets R.F.: Blood 14 , 378 (1959)

Harrington D.O.: Amer. J. Ophthal. 3.Series 52 , 967 (1962)

Heaton J.M. Mc Cormick A.J.A., Freeman A.G.: Lancet 2 , 286 (1958)

Hegnauer R., "Chemotaxonomie der Pflanzen", Band 1 - 4, Birkhausen, Basel (1963)

Heinrich H.C.: Sem. Hematol 1 , 199 (1964)

Heinrich H.C.: Dtsch. med. Wschr. 95 , 1134 (1970)

Heller L.: Zbl. Gynäk . 82 , 285 (1960)

Himwich W.A., Saunders J.P.: Amer.J.Physiol. 153 , 348 (1948)

Hollwich F., Jünemann G. und Damaske E.: in Schievelbein: Nikotin Georg Thieme, Stuttgart (1968)

Hurst E.W.: Austr. J. exp. Biol. med. Sci. 20 , 297 (1942)

Innamura S. und Ichikawa K.: Rev. neurol. 26 , 277 (1919)

Jones D.A., Parson J., Rothschild M.: Nature 193 , 52 (1962)

Jünemann G. Damaske E.: Münch. med. Wschr. 10 , 586 (1968)

Kensler C.J., Battista S.P.: New.Engl.J.Med. 269 , 1161 (1963)

Kiese M., Schöber J.G., Weger N.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch.exp.Path.Pharmak. 260 , 152 (1968)

Kiese M. und Weger N.: Arch.Toxicol. 21 , 89 (1965) a

Kiese M. und Weger N.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch.exp.Path. Pharmak. 250 , 263 (1965) b

Kiese M., Weger N.: European J. Pharmacol 7 , 97 (1969)

Kidder III G.W.: Proc.Soc.exp.Biol (N.Y.) 129 , 743 (1968)

Kjeldsen K.: Smoking and Atherosklerosis, Kopenhagen (1969)

Klimmer O.R.: Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel. Abriß einer Toxikologie und Therapie von Vergiftungen. Hundt, Nattingen (1971

Knox L.: Arch Ophthal. 83 , 103 (1970)

Kohn-Abrest E.: Compt.Rend.Acad.Sci. 142 , 586 (1906)

Kommerell G., Castrillon-Oberndorfer W.L.: Klin. Mbl. Augenheilk. 153 , 551 (1968) Heft 4

Lang K.: Biochem. Z. 259 , 17 (1933)

Lang K.: Rhodanese . In Hoppe-Seyler-Thierfelder: Handbuch der physiologisch und pathologisch-chemischen Analyse, Bd. VI, Teil B, S. 780. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966

Lang S.: Arch.exp.Path.Pharmak. 36 , 75 (1895)

Langmann H.J.S., Doll R. und Wilson J.: Gut 7 , 549 (1966)

Larson P.S., Haag H.B., Silvette H.: Tobacco , Experimental and Clinical Studies, The Williams and Wilkins Company, Baltimore 1961, S. 337

Lawton A.H., Sweeney T.R., Dudley H.C.: Indust. Hyp. Toxicol. 25 , 13 (1943)

Leber T.: Albrecht v. Graefes Arch.Ophthal. 17 , 249 (1871)

Le Ferre M.E., Gohmann E.J.Jr. und Rehm W.S.: Am. J. Physiol. 207 , 613 (1964)

Lehman A.J.: Quart.Bull., Assoc.of F. and D. Offic. of U.S.: 15 , 122 (1951)

Lees F. Mac Donald A.M. und Turner J.W.A.: Neurol., Neurosurg., Psychiat. 27 , 415 (1964)

Leininger K.R, Westley J.: J. biol. Chem. 243 , 1892 (1968)

Leishman R.: Trans.ophthal.Soc. U.K. 71 , 319 (1951)

Liebig J. von : Annalen 77 , 102 (1851)

Lindstrand K.: Nature (Lond.) 204 , 188 (1964)

Lindstrand K. und Ståhlberg K.G.: Acta med.scand. 174 , 665 (1963)

Lindstrand K., Wilson J., Matthews D.M.: Brit.med. J. 2 , 988 (1966)

Linnel J.C., Mackenzie H.M., Wilson J. und Matthews D.M.: J.clin.Path. 22 , 545 (1969)

Linnel J.K., Smith A.D.M., Smith C.L., Wilson J., Matthews D.M.: Brit. med. J. 2 , 215 (1968)

Lörcher W. und Weger N.: Naunyn-Schmiedebergs Arch.Pharmak. Supplement zu Vol 270 (1971)

Loureiro J.C.: Klin.Monatsbl.f.Augenh. 3 , 394(1865)

Low-Beer T.S.: Kurzbericht in Dtsch.Ärztebl. Nr. 16, 1080 (1969)

Lüdtke M.: Biochem. Z., 222 , 310 (1952)

Lumsden G.E.: J. Neurol. Neurosurg., Psychiatr. 13 , 1 (1950)

Mackenzie A.D. und Phillips C.J.: Brain 91 , 249 (1968)

Maliszewsky T.F. und Bass D.E..: J. Appl. Physiol. 8 , 289 (1955

Matthews D.M.: Lancet 1289 (1961)

Matthews D.M., Wilson J., Zilkha K.J.: J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 28 , 426 (1965)

Maxwell H.W.: Texas State J. Med. 49 , 137 (1953)

Mc Feters G.A.: Bericht in Medical Tribune Nr. 35, 8, (1969)

Melville J., Coop I.E., Doak B.W. und Reifers I.: N.Z.J.Sci. Technol. 22 , 144 (1940)

Mendel L.B. und Schneider E.C.: Am.J.Physiol. 4, VII (1900)

Miller S.L. und Parris M.: Nature 204 , 1248 (1964)

Miyaura Y.: Medical Tribune Nr. 42 , 2 (1969)

Moeschlin S.: Klinik und Therapie der Vergiftungen, Georg Thieme, Stuttgart (1964)

Mollin D.L. und Ross G.I.M.: J.clin.Path. 5 , 129 (1952)

Mollin D.L. und Ross G.I.M.: Proc. R. Soc. Med. 47 , 428 (1954)

Monekosso G. L., Wilson J.: Lancet 1062 (1966)

Money G.L.: W.Afr.med. J. 4 , 46 (1930)

Montgomery R.D.: Indian Med. J. 13 , 1 (1964)

Montgomery R.D.: Cyanogens in: Toxic Constituents of Plant Foodstuffs, S. 143, Academic Press, New York/ London (1969)

Moody F.G.: Amer. J. Physiol. 215, Nr. 1, 127 (1968)

Morrison P.E., Brown A.W.A.: J. econ. Ent. 47 , 723 (1954)

Mushett Ch.W., Kelley K.L., Boxer G.E., Rickards J.C.: Proc.Soc.exp. Biol. (N.Y.) 81 , 234 (1952)

Newsome J.R., Norman V., Keith C.H.: Tobacco Science IX 102 (1965)

Nieper H.A.: BuG 1971/1, S. 7 Therapie der Krebskrankheit mit Amygdalin

Oettingen von W.F., Hueper W.C., Deichmann-Gruebler W.: J.ind.Hyg.Toxicol.: 18 , 310 (1936)

Offterdinger H., Weger N.: Naunyn-Schmiedberg´s Arch.exp.Path.Pharmak. 264 , 289 (1969)

Ohkawa H, Casida J.E.: Biochem. Pharmacol 20 , 1708 (1971)

Osborne J.S., Adamek S., Hobbs M.E.: Analyt.Chem 28 , Nr. 2 , 211 (1956)

Osuntokun B.O.: Brain 91 , 215 (1968)

Osuntokun B.O., Durowoju J.E., Mc Farlane H. Wilson J.: Brit. med. J. 3 , 647 (1968)

Osuntokun B.O., Monekosso G.L., Wilson J.: Brit. med. J. 1 , 547 (1969)

Phillips C.J., Ainley R.G., van Peborgh P., Watson-Williams E.J.: Nature (London) 217 , 67 (1968)

Pick F.: Verh.deutsch.Kongr. inn.Med.: 27 , 559 (1910)

Pirie A., Heyningen van, R.:
Biochemistry of the Eye S. 78, Oxford (1956)

Polson C.J. und Tattersall R.N.:
Clinical Toxicology, Engl.Univ.Press. London (1959)

Powers G.H.: Med. News 49 , 642 (1886)

Pulss G.: Zs. analyt. Chem. 190 , 402 (1962)

Pulss G.: Untersuchungen über besondere Inhaltsstoffe von Futterpflanzen und ihren Einfluß auf den Stoffwechsel der Haustiere. Parey, Hamburg (1964)

Pulss G.: Tierärztliche Umschau 22 , 412 (1967)

Ramos H. und Visva P.: Arch. urug. med. 26 , 185 (1945)

Reinwein D.: Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 326 , 94 (1961)

Roßmann H.: Dtsch. med. Wschr. 95, Nr. 8, 419 (1970)

Sanchez R.A., Ferris J.P., Orgel L.E.: Science 154 , 784 (1966)

Sanchez R., Ferris J., Orgel L.:
Bericht in: Naturwissenschaft und Medizin
Nr. 23 , 5. Jhrg. , 51 (1968)

Saussure de V.A., Dandliker W.B.: Immunochemistry 6 , 77 (1969)

Schievelbein H., Werle E., Schulz E.K., Baumeister R.:
Naunyn-Schmiedeberg´s Arch.Pharmak.exp.Path.
262 , 358 (1969)

Schiffer L.M., Cronkite E.P., Meyer L.M., Miller J.E.:
Brit. J. Haemat. 12 , 578, (1966)

Schildknecht H., Maschwitz U., Krauss D.:
Naturwissenschaften 55 , 230 (1968)

Schilling R.F.: J. Lab. clin. Med. 42 , 860 (1953)

Schöberl A., Kawohl M., Hamm R.: Chem.Ber. 84 , 571 (1951)

Schreiber H.: Biochem. 163 , 241 (1925)

Schulz E.K.: Der Einfluß von Tabakrauch und Nikotin auf die Thiosulfat-Schwefeltransferase im tierischen Organismus Dissertation München (1968)

Schwarzkopf H.A., Friedberg K.D.: Naunyn-Schmiedebergs
Arch. exp. Path. Pharmak. 266 , 451 (1970)

Sheehy M. und Way J.L.: J. Pharmakol Exp. Therap 161 , 163 (1968)

Silvette H., Haag H.B., Larson P.S.: Amer. J. Ophthal. 50 , 71 (1960)

Smith A.D.M.: Lancet 1001 (1961) a

Smith A.D.M.: Lancet 1346 (1961) b

Smith A.D.M.: Brit. med. J. 427 (1961) c

Smith A.D.M.: Brit. med. J. 1655 (1962)

Smith A.D.M.: Lancet 668 (1964)

Smith A.D.M., Duckett S.: Brit. J.exp.Path. 46 , 615 (1965)

Smith A.D.M., Duckett S., Waters A.H.: Nature (Lond.) 200 , 179 (1963)

Smith A.D.M., Foulkes M.: Nature 209 , 919 (1966)

Sörbo B.H.: Acta chem. scand. 5 , 724 (1951) a

Sörbo B.H.: Acta chem. scand. 5 , 1218 (1951) b

Sörbo B.H.: Acta chem. scand. 7 , 1129 (1953) a

Sörbo B.H.: Acta chem. scand. 7 . 1137 (1953) b

Sörbo B.H.: Acta chem. scand. 8 (1954)

Sörbo B.H.: Acta Chem. scand. 16 , 2455 (1962)

Sörbo H.B.: Acta Chem. scand. 17 . 5107 (1963)

Stadie W.S.: J. Biol. Chem. 41 , 237 (1920)

Stählin A.: Die Beurteilung der Futtermittel, Verb.Dt. Landw.Untersuch.-u.Forsch. anst., Methodenbuch Bd.12, Neumann, Radebeul, 1957

Stålhlberg K.G.: Scand. J. haemat. 1 , 220 (1964)

Stålhlberg K.G. Scand. J. Haemat. Suppl. 1 (1967)

Stedman R.L.: Chem. Revs. 68 , 153 (1968)

Støa K.F.: Medd.Norsk.Farm.Selskap 13 , 93 (1951)

Støa K.F.: Studies on Thiocyanate in Serum, University of Bergen (1957)

Taubmann G.: Arch. exp. Path. Pharmak. 150 , 257 (1930)

Toohey J.I. und Barker H.A.: J.Biol.Ghem. 236 , 560 (1961)

Traquair H.M.: Lancet 1173 (1928)

Traquair H.M.: Trans.ophthal. Soc. U. K. 1 , 351 (1930)

Trasoff A. und Schneeberg N.G.: Am. J. M. Sc. 207 , 63 (1944)

Treviranus : Biologie oder Philosophie der lebenden Natur 4 , 331 (1814) zit bei Lickint F.: Z.Klin.Med. 100, 543 (1924)

Tschiersch B.: Pharmazie 22 , 76 (1967)

Turtz C.A.: J.Am.Inst. Homeop. 26 , 511 (1933)

Victor M.: Arch. Ophthal. 70 , 313 (1963)

Victor M., Mancall E.L. und Dreyfus P.M.: Arch. Ophth. 64 , 1 (1960)

Viehoever A.: Thailand Sci Bull. 2 , 1 (1940)

Villarejo M., Westley J.: J. biol. Ch. 238 Pc 1185 (1963)

Volini M., Detoma F. und Westley J.: J.Biol.Chem. 243 5465 (1968)

Volkin E.: J. Biol. Chem. 175 , 675 (1948)

Wallenfels K.: Monatskurse ärztl.Fortbild. 19, Nr.2, 100 (1969)

Waller H.D. und Castrillon-Oberndorfer W.L.: Therapiewoche 18 , 416 (1968)

Wang S.F., Volini M.: J. biol. Chem. 243 , 5465 (1968)

Watson-Williams E.J., Bottomley R.G. und Phillips C.J.: Brit. J. Ophthal. 53 , 549 (1969)

Weger N.: Arch. Toxikol. 24 , 49 (1968)

Weger N.: Med.Monatsschrift 23 , 436 (1969)

Weichselbaum T.E.: Amer.J.Clin.Path.(Techn.sect.) 10 , 40 (1946)

Weissbach H., Toohey J.I., Barker H.A.: Proc.nat.Acad.Sci. (Wash.) 45 , 521 (1959)

Werle E.: Voeding 30 , 312 (1969)

Wheeler W.M.: Psyche 5 , 422 (1890)

Wieth J.O.: Acta.physiol.scand. 75 , 313 (1969)

Williamson J.T., Graham J.F., Allman D.R.:
Beiträge zur Tabakforschung 3, Heft 3 ,
233 (1965)

Wilson J.: Brain 86 , 347 (1963)

Wilson J.: Clin. Sci. 29 , 505 (1965) a

Wilson J.: Ann. Phys. Med. 8 , 91 (1965) b

Wilson J., Matthews D.M.: Clin. Sci. 31 , 1 (1966)

Wilson J.: Proc . roy. Soc. Med. 60 , 157 (1967)

Wilson J., Linnell J.G., Matthews D.M.: Lancet 259 (1971)

Wokes F.: Lancet 526 (1958)

Wokes F., Badenoch J., Sinclair H.M., Voeding 6, 590 (1955)

Wokes F., Picard C.W.: Résumés des Communications 3. Congrés
international de Biochemie Brüssel S. 116 (1955) a

Wokes F., Picard C.W.: Amer.J.clin.Nutr. 3 , 383 (1955) b

Wood T.: J. Sci. Fd. Agr. 17 , 85 (1966)

Wood J.L., Cooley S.L.: J. biol. Chem. 218 , 449 (1956)

Wurmbach H.: Lehrbuch der Zoologie Stuttgart, G.Fischer-
verlag (1968)

Wynder E.L., Hoffmann D.: Tobacco and Tobacco Smoke.
Academic Press, New York/London (1967)

Meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. H. Schievelbein bin ich für die Überlassung des Themas zu Dank verpflichtet. Für die stete und uneingeschränkte Unterstützung und Hilfestellung danke ich ihm besonders herzlich.
Dem Direktor des Instituts, Herrn Prof. Dr. Dr. E. Werle schulde ich für die freundliche Aufnahme in seinem Institut und die Förderung meiner Arbeiten ebenfalls Dank.

L e b e n s l a u f

Am 17. August 1945 wurde ich auf Schloß Schwindegg, Kreis Mühldorf geboren. In München besuchte ich die Volksschule an der Amalienstraße von 1951 bis 1955. Im Anschluß daran besuchte ich das humanistische Maximiliansgymnasium, das ich 1964 nach bestandener Reifeprüfung verließ. Im selben Jahr begann ich meine Studien an der medizinischen Fakultät der Universität München. Im Januar 1971 bestand ich die ärztliche Prüfung mit der Note : sehr gut. Meine Medizinalassistentenzeit leistete ich am Institut für klinische Chemie und klinische Biochemie der Universität München, dem Stadtkrankenhaus Landsberg/Lech und der Chirurgischen Klinik der Universität München ab.